

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten (Direktor: Prof. Dr. F. Jung)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Über die endogene Demineralisation des Dentins
der durchgebrochenen Zähne
(Tierexperimentelle Studie)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktors
der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von
Wolfgang Saenger
Zahnarzt
aus Kassel

Mainz 1965

Aus der Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten (Direktor: Prof. Dr. F. Jung)
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

Über die endogene Demineralisation des Dentins
der durchgebrochenen Zähne
(Tierexperimentelle Studie)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Würde eines Doktors
der Zahnheilkunde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität zu Mainz

vorgelegt von
Wolfgang Saenger
Zahnarzt
aus Kassel

Mainz 1965



Dekan:

Prof. Dr. med. K. Thomsen

Referent:

Privatdozent Oberarzt Dr. F. Rozeik

Korreferent:

Prof. Dr. Dr. med. M. Herrmann

Tag der mündl. Prüfung:

2. Februar 1965

MEINEN ELTERN

I. Einleitung	1
II. Die Kindheit	2
1. Die Kindheit des Kindes	2
2. Die Kindheit des Kindes	3
3. Die Kindheit des Kindes	4
4. Die Kindheit des Kindes	5
5. Die Kindheit des Kindes	6
6. Die Kindheit des Kindes	7
7. Die Kindheit des Kindes	8
8. Die Kindheit des Kindes	9
9. Die Kindheit des Kindes	10
10. Die Kindheit des Kindes	11
11. Die Kindheit des Kindes	12
12. Die Kindheit des Kindes	13
13. Die Kindheit des Kindes	14
14. Die Kindheit des Kindes	15
15. Die Kindheit des Kindes	16
16. Die Kindheit des Kindes	17
17. Die Kindheit des Kindes	18
18. Die Kindheit des Kindes	19
19. Die Kindheit des Kindes	20
20. Die Kindheit des Kindes	21
21. Die Kindheit des Kindes	22
22. Die Kindheit des Kindes	23
23. Die Kindheit des Kindes	24
24. Die Kindheit des Kindes	25
25. Die Kindheit des Kindes	26
26. Die Kindheit des Kindes	27
27. Die Kindheit des Kindes	28
28. Die Kindheit des Kindes	29
29. Die Kindheit des Kindes	30
30. Die Kindheit des Kindes	31
31. Die Kindheit des Kindes	32
32. Die Kindheit des Kindes	33
33. Die Kindheit des Kindes	34
34. Die Kindheit des Kindes	35
35. Die Kindheit des Kindes	36
36. Die Kindheit des Kindes	37
37. Die Kindheit des Kindes	38
38. Die Kindheit des Kindes	39
39. Die Kindheit des Kindes	40
40. Die Kindheit des Kindes	41
41. Die Kindheit des Kindes	42
42. Die Kindheit des Kindes	43
43. Die Kindheit des Kindes	44
44. Die Kindheit des Kindes	45
45. Die Kindheit des Kindes	46
46. Die Kindheit des Kindes	47
47. Die Kindheit des Kindes	48
48. Die Kindheit des Kindes	49
49. Die Kindheit des Kindes	50
50. Die Kindheit des Kindes	51
51. Die Kindheit des Kindes	52
52. Die Kindheit des Kindes	53
53. Die Kindheit des Kindes	54
54. Die Kindheit des Kindes	55
55. Die Kindheit des Kindes	56
56. Die Kindheit des Kindes	57
57. Die Kindheit des Kindes	58
58. Die Kindheit des Kindes	59
59. Die Kindheit des Kindes	60
60. Die Kindheit des Kindes	61
61. Die Kindheit des Kindes	62
62. Die Kindheit des Kindes	63
63. Die Kindheit des Kindes	64
64. Die Kindheit des Kindes	65
65. Die Kindheit des Kindes	66
66. Die Kindheit des Kindes	67
67. Die Kindheit des Kindes	68
68. Die Kindheit des Kindes	69
69. Die Kindheit des Kindes	70
70. Die Kindheit des Kindes	71
71. Die Kindheit des Kindes	72
72. Die Kindheit des Kindes	73
73. Die Kindheit des Kindes	74
74. Die Kindheit des Kindes	75
75. Die Kindheit des Kindes	76
76. Die Kindheit des Kindes	77
77. Die Kindheit des Kindes	78
78. Die Kindheit des Kindes	79
79. Die Kindheit des Kindes	80
80. Die Kindheit des Kindes	81
81. Die Kindheit des Kindes	82
82. Die Kindheit des Kindes	83
83. Die Kindheit des Kindes	84
84. Die Kindheit des Kindes	85
85. Die Kindheit des Kindes	86
86. Die Kindheit des Kindes	87
87. Die Kindheit des Kindes	88
88. Die Kindheit des Kindes	89
89. Die Kindheit des Kindes	90
90. Die Kindheit des Kindes	91
91. Die Kindheit des Kindes	92
92. Die Kindheit des Kindes	93
93. Die Kindheit des Kindes	94
94. Die Kindheit des Kindes	95
95. Die Kindheit des Kindes	96
96. Die Kindheit des Kindes	97
97. Die Kindheit des Kindes	98
98. Die Kindheit des Kindes	99
99. Die Kindheit des Kindes	100

Inhaltsübersicht

	Seite
A. Einleitung	3
B. Literarischer Teil	5
I. Der Stoffwechsel der Mengenelemente und seine Bedeutung für das Skelettsystem	5
1) Allgemeines	5
2) Der Calcium- und Phosphorstoffwechsel des Knochens	5
3) Das Skelett als Mineraldepotorgan	11
II. Über den Aufbau der harten Zahnschubstanzen und die Bedeutung des Mineralstoffwechsels für das Zahnsystem	13
1) Allgemeines	13
2) Über die Struktur und chemische Zusammen- setzung der Zahnhartsubstanzen	13
3) Die physikalische Härte der harten Zahn- substanzen	16
4) Die Bedeutung des sogenannten Dentin- liquors	18
III. Die Rachitis als Stoffwechselstörung	22
1) Allgemeines	22
2) Störungen des Verknöcherungsprozesses .	22
3) Störungen des allgemeinen Stoffwechsels außerhalb des Skelettsystems	31
4) Die Bedeutung des Vitamin D für die Pathogenese der Rachitis	32
IV. Die weiße Ratte als Versuchstier	34
1) Allgemeines	34
2) Das Zahnsystem der weißen Ratte	34
3) Die Rachitis der weißen Ratte	37

C. Experimenteller Teil	39
I. Versuchsplanung	39
II. Versuchsverlauf	42
1) Zucht und Haltung der Ratten	42
2) Röntgenkontrolle	46
3) Härtemessungen	48
4) Gravimetrische Bestimmungen	57
5) Chemische Analysen	58
III. Ergebnisse	68
1) Wachstum	68
2) Makroskopischer Befund an Femora und Kieferknochen	70
3) Röntgenbefund	70
4) Härtemessungen	73
5) Gravimetrische Bestimmungen	74
6) Chemische Analysen	75
7) Histologischer Befund	76
D. Diskussion	83
E. Zusammenfassung	87
F. Literaturverzeichnis	89

A. Einleitung

Die Möglichkeit einer endogenen Demineralisation des Dentins der durchgebrochenen Zähne ist eng verknüpft mit der Frage nach dem Vorhandensein eines Stoffwechsels in diesem Gewebe und dessen Beziehungen zu den Stoffwechselvorgängen des Gesamtorganismus.

Die Frage, ob die Hartgewebe des in die Mundhöhle durchgebrochenen und nicht mehr in der Entwicklung stehenden Zahnes auch weiterhin einem Stoffwechsel unterliegen, ist oft diskutiert worden. So nimmt FORSHUFVUD (1) einen regen Säfteaustausch von der Blutseite her via Ultrakapillaren durch das Dentin bis in den Schmelz hin an. Nach CSERNYEI (2,3) spielt bei der Entstehung der Karies die Störung des Gleichgewichtes der sogenannten Zahnlymphe eine ursächliche Rolle. Die Karies wird als ein endogener pathologischer Zustand der Pulpa aufgefaßt, der mit einem von der Pulpa gegen die Schmelzoberfläche vorwärtsschreitenden biochemischen Demineralisationsprozeß der Zahnhartgewebe einhergeht. FISCHER (4) glaubt, daß das lebende Zahngewebe aufs engste mit dem Gesamtkörper, dessen Stoffwechsel und allen zum Leben gehörigen Systemen verknüpft ist. Er hält die Gewebe des Zahnes geradezu für ein Spiegelbild aller im Organismus ablaufenden und sich abspielenden Lebensvorgänge. Auch PROELL (5) sieht die Existenz einer Pulpa-Schmelz-Relation über das Dentin als gegeben an. Nach BUTENANDT (6) unterliegen alle stofflichen Ordnungsgefüge, alle Strukturen im Leben einem dauernden Auf- und Abbau. In diesen Prozeß des Fließgleichgewichtes (BUTENANDT) sind auch die so stabil erscheinenden Strukturen der Knochen und Zähne einbezogen. WERNLY (7) schreibt, daß zwischen extracellulärer Flüssigkeit und Dentin, zwischen Speichel und Schmelz und schließlich auch zwischen Schmelz und Dentin beim Menschen ein Stoffwechselaustausch stattfindet, der bereits für zahlreiche Substanzen erforscht und als sehr lebhaft verlaufend identifiziert worden ist.

Andere Autoren betrachten die Frage eines Stoffwechsels der harten ZahnsUBstanzen mit Zurückhaltung. So hält EULER (8) eine Beeinflussung der Mineralisation des fertig entwickelten Zahnes für sehr fraglich. WANNENMACHER (9) bezeichnet einen Mineralentzug aus dem fertig entwickelten Zahn via Dentin-Pulpa als unwahrscheinlich, sieht aber im Dentin einen Stoffaustausch als vorhanden an, der um so lebhafter verlaufen soll, je näher das Dentin der Pulpa liegt. Auch ROZEIK (10) steht der Annahme eines Stoffwechsels des Schmelzes abwartend gegenüber und nimmt lediglich einen Ionenaustausch zwischen dem Schmelz des Zahnes und seiner Umgebung an. Nach elektronenmikroskopischen Untersuchungen von LENZ (11) ist die Möglichkeit eines an die Blutbahn angeschlossenen Stoffwechsels des Schmelzes von der Pulpa her durch ein dem Dentin und Schmelz gemeinsames Gefäßsystem in Form von Reticulinfasern im Sinne FISCHERS und FORSHUFVUDS nicht gegeben.

Versucht man, die Vielfalt der in der Literatur dargelegten Meinungen zur Frage eines Stoffwechsels der Zahnhartsubstanzen zu überblicken, so kann gesagt werden, daß nach Ansicht der meisten Autoren ein Stoffwechsel im Schmelz wenig wahrscheinlich ist. Dagegen scheint das Dentin in gewissem Umfang am Stoffwechsel des Organismus zu partizipieren, worauf insbesondere neuere systematische Untersuchungen zur Frage des Dentinstoffwechsels von SPRETER VON KREUDENSTEIN und Mitarb. (12 - 24) hinweisen.

B. Literarischer Teil

I. Der Stoffwechsel der Mengenelemente und seine Bedeutung für das Skelettsystem.

1) Allgemeines

Die im Organismus aufgefundenen Elemente lassen sich nach der Menge ihres Vorkommens und ihrer Bedeutung in zwei Gruppen aufteilen: Mengenelemente und Spurenelemente. Während die Mengenelemente in der Hauptsache Baustoffe sind, sollen die Spurenelemente als Wirkstoffe von Bedeutung sein. Die derzeitigen Kenntnisse über den Stoffwechsel der Mengen- und Spurenelemente sind von unterschiedlichem Ausmaß. Überhaupt kann nur bedingt von einem Stoffwechsel einzelner Elemente gesprochen werden, da immer wieder die Beziehungen zu den übrigen Verbindungen und Vorgängen zu berücksichtigen sind. Als Mengenelemente sind zu nennen die Elemente: H, Na, K, Mg, Ca, C, N, P, O, S, Cl (25). Von diesen haben als Baustoffe des Knochens die Mineralien mit rund 70 % der Knochentrockensubstanz (26) den mengenmäßig größten Anteil. Von den Mineralstoffen sind es die Elemente Ca und P, die den Hauptteil der anorganischen Knochensubstanz ausmachen, und die daher für den Mineralstoffwechsel des Knochens von besonderer Bedeutung sind. Neben den Elementen H, O, C und N, die als Bestandteile organischer Verbindungen sowie im Wasser und in den Anionen PO_4^{---} und CO_3^{--} vorliegen, finden sich von den aufgeführten Mengenelementen im Knochen hauptsächlich noch die Elemente Mg, Na und K.

2) Der Calcium- und Phosphorstoffwechsel des Knochens.

Der größte Teil des im Organismus enthaltenen Calciums und Phosphors ist in den Hartsubstanzen der Knochen und Zähne deponiert. Nach WERNLY (7) beträgt der Anteil des Calciums an der gesamten Körpersubstanz etwa 2 %, wovon sich etwa 99,9 % in Knochen und Zähnen finden. Die übrigen 0,1 % sind auf Blutserum und extracelluläre Flüssigkeit verteilt. Der im

Organismus enthaltene Phosphor macht etwa 1,16 % der Körpersubstanz aus. Davon sind 80 % in unlöslicher Form im Skelett und in den Zähnen gebunden. Die restlichen 20 % finden sich gelöst intra- und extracellulär, teils als anorganisches Salz, teils organisch gebunden als Ester.

Der Mineralanteil des Knochens enthält nach LANG (26) 36,7 % Calciumionen und 50,1 % Phosphationen. LEIMGRUBER (27) gibt den Calciumgehalt des Knochens mit 36,6 %, den Phosphorgehalt mit 17,1 % an. Nach HODGE (28) finden sich in 100 g Knochenasche 35,5 g Ca und 17,1 g Phosphor.

Für die anorganische Knochensubstanz wird heute von den meisten Autoren eine Hydroxylapatitstruktur angenommen. Hydroxylapatit hat ein theoretisches atomares Verhältnis $\text{Ca} : \text{P} = 1,66$. Nach LANG (26) schwanken die in der Literatur angegebenen Werte für das $\text{Ca} : \text{P}$ -Verhältnis in der anorganischen Knochensubstanz zwischen 1,33 und 2,0. Als Erklärung für diese Abweichungen von der theoretischen Zusammensetzung wird angenommen, daß Ca^{++} , PO_4^{---} , Wasser und dergl. an der Oberfläche der Kristalle adsorbiert sind und daß in dem Kristallgitter H^+ , OH^- , F^- , CO_3^{--} usw. durch isomorphen Austausch eingebaut werden.

Die Bezeichnung Hydroxylapatit für den kristallinen Anteil des Knochens wird von manchen Autoren als nur mit Einschränkung anwendbar angesehen.

So betonen MINDER und GORDONOFF (29), daß bis vor etwa 10 Jahren die meisten Aussagen über die mineralische Knochensubstanz auf chemische und röntgenologische Untersuchungen an geglühten Knochenpräparaten bezogen worden sind. Durch den Glühprozeß soll aber die sehr instabile und wenig regelmäßige Struktur der außerordentlich kleinen Knochenphosphatkriställchen in eine ziemlich sauber definierte Apatitstruktur umgewandelt werden, wobei der Glühtemperatur eine ausschlaggebende Bedeutung für Rückschlüsse auf die Struktur der Ausgangssubstanz beigemessen wird. Nach den genannten Autoren (29) zeigt

das Weitwinkelradiogramm von frischem Knochen diffuse und schlecht definierte Interferenzen, wie sie für den unbehandelten Knochen typisch sein sollen. Das Radiogramm eines unterhalb 800°C geglühten Knochenmaterials (Ratte) ist ein typisches Apatitröntgenogramm. Bei 800°C und darüber treten Interferenzen auf, die nicht dem Apatit zugeordnet werden können. Oberhalb dieser Temperatur soll die anorganische Knochensubstanz in zunehmendem Maße eine Umwandlung in β -Tricalciumphosphat und CaO erfahren.

Die Problematik, die sich aus den Untersuchungen der anorganischen Knochensubstanz ergibt, und die Frage nach ihrer Struktur in vivo, steht in engem Zusammenhang mit den Anschauungen über den Mineralstoffwechsel des Knochens.

Nach LANG (26) umfaßt der Mineralstoffwechsel im Knochen vitale und nicht vitale Prozesse. Zu den vitalen Prozessen gehören die Neubildung von Knochensubstanz und deren Resorption sowie der laufend stattfindende Umbau. Knochenneubildung und Resorption sind an das Vorhandensein von Zellen, Osteoblasten bzw. Osteoklasten, gebunden und laufen nur unter Beteiligung dieser Zellen ab. Die Neubildung von Knochensubstanz besteht aus der Synthese der organischen Matrix und Einlagerung der Mineralbestandteile in diese. Bei der Resorption werden sowohl die Mineralstoffe als auch die organische Matrix abgebaut. Die Vorgänge, die sich bei der Bildung der organischen Matrix und der Einlagerung der anorganischen Knochenbestandteile in diese abspielen, sind im einzelnen noch nicht geklärt. Über einige Anschauungen, die den Mechanismus der Einlagerung der Mineralsalze in die Knochengrundsubstanz zu erklären versuchen, wird in Abschnitt III,2) bei der Betrachtung der Störungen des Verknöcherungsprozesses berichtet.

Zu den nicht vitalen Prozessen gehören Oberflächenphänomene, die sich an den Apatitkristallen des Knochens abspielen.

Nach MINDER und GORDONOFF (29) ist das Kristallgitter der Apatite ein Schichtgitter, in dem sich nach der kristallographischen c-Achse abwechselnd Schichten von $3 (\text{CaPO}_4)^-$ -Komplexen mit 2 Ca^{++} -Ionen folgen. Die überschüssigen positiven Ladungen der Ca^{++} -Schichten werden dabei durch OH^- , F^- oder Cl^- -Ionen in den $(\text{CaPO}_4)^-$ -Schichten kompensiert.

In der Abbildung 1 sind diese Verhältnisse schematisch dargestellt.

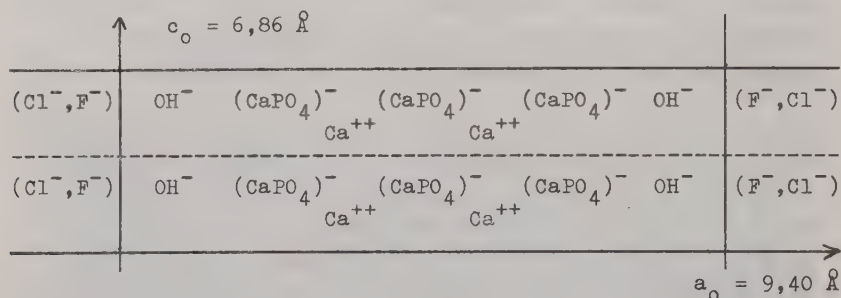


Abb. 1: Schematische Darstellung zur Veranschaulichung des Schichtgitters der Apatite (nach MINDER und GORDONOFF (29)).

Wie MINDER und GORDONOFF (29) schreiben, zeigen derartige Schichtgitter gegen freie Ionen in umgebenden Lösungen ausgesprochene Ionenaustauscherscheinungen, und zwar sowohl gegen Kationen als auch gegen Anionen. Bei der ionisch abwechselnden Schichtfolge sind Oberflächeneffekte für die Bilanz der Zusammensetzung des Systems ausschlaggebend.

Nach NEUMAN und NEUMAN (30) muß in einem System, bestehend aus einer Festphase und einer flüssigen Phase, für jeden einzelnen Kristallit eine Adsorptionszone in Betracht gezogen werden, in der alle Stoffe der flüssigen Phase, einschließ-

lich besonders des Wassers, an den Kristalliten gebunden sind. Der relative Anteil eines solchen Hydratationsmantels der Kristallite muß um so bedeutungsvoller werden, je kleiner die Kristallite sind.

Diese Verhältnisse liegen im Knochen vor, wenn man die Knochenkristallite als Festphase und die celluläre Knochensubstanz + Flüssigkeiten als flüssige Phase des Systems betrachtet.

Auch sind die Festkörperkristallite der unveränderten Knochensubstanz sehr klein, wie aus den Adsorptionsversuchen von NEUMAN und NEUMAN (31) und den Entwinkelröntgeninterferenzen von CARLSTRÖM (32) geschlossen werden kann. Zusammen besitzen die Apatitkristalle des Knochens eine sehr große Oberfläche, die von LANG (26) mit rund 100 m^2 je Gramm angegeben wird. Für einen Menschen von 70 kg Gewicht würde daher die gesamte Oberfläche der Knochenkriställchen etwa 10^6 m^2 betragen.

Nach MINDER und GORDONOFF (29) finden sich in der Hydratationsschale der Knochenkristallite neben den hauptsächlichsten Knochenbestandteilen PO_4^{---} und Ca^{++} und den Wasserionen OH^- und H_3O^+ außerdem Na^+ , Cl^- , F^- , CO_3^{--} , Mg^{++} und Citrationen. Die Dicke der Hydratationsschale ist abhängig von der relativen Konzentration der in ihr vorhandenen Ionen und deren Hydratationszahlen sowie von der Polarisierbarkeit der Ionen an der Kristallitoberfläche. Vorzugsweise in diesem Hydratationsmantel sollen sich die biochemischen Vorgänge, wie MINDER und GORDONOFF schreiben, der lebenden Knochensubstanz abspielen. Die anorganische Knochensubstanz wird als ein sehr komplexes Stoffsystem bezeichnet, dessen wesentliche Merkmale in seiner im weitesten Sinne chemischen Dynamik liegen. Die genannten Autoren (29) sehen in dieser chemischen Dynamik des Knochensystems das wesentliche Prinzip, welches für seinen makroskopischen und mikroskopischen Auf-

bau, aber auch für seine normale und pathologische Physiologie die Grundlagen liefert.

LANG (26) schreibt über den oberflächenchemischen Ionenaustausch, daß hier zwei Prozesse nebeneinander stattfinden: 1. ein rasch ablaufender, reversibler und 2. ein langsam ablaufender, irreversibler. Der rasch ablaufende Prozeß besteht in der Ausbildung eines Gleichgewichtszustandes zwischen den an der Oberfläche der Kriställchen gelegenen Ionen und denen der umgebenden Flüssigkeit bzw. des Blutes. Die das Kristallgitter bildenden Ionen liegen nach der Außenseite zu frei und stehen in Berührung mit dem sie umgebenden flüssigen Medium. Bei einer hinreichend großen Schwingungsamplitude können sich Ionen lösen und in die Flüssigkeit übertreten, und umgekehrt werden Ionen aus der mit den betreffenden Ionen gesättigten Umgebungsflüssigkeit an die freigewordene Stelle geraten und von den Gitterkräften eingefangen werden. Der Prozeß ist somit temperaturabhängig. An diesen raschen Austauschprozessen beteiligen sich etwa 20 % des gesamten Calciums und auch 20 % des Phosphats. Neben diesem isoionischen Austausch kann man noch einen heteroionischen Austausch beobachten, wenn die umgebende Flüssigkeit Ionen enthält, welche die im Kristallgitter gebundenen Ionen vertreten können. So werden Ca^{++} mit Mg^{++} , Sr^{++} , Na^+ , K^+ u.a.m. ausgetauscht. Am Stelle von OH^- können CO_3^{--} bzw. HCO_3^- oder F^- treten. Solche heteroionischen Austauschprozesse können in gewissem Umfange die Eigenschaften der Kristalle, etwa ihre Ladung, verändern.

Der langsam ablaufende irreversible Prozeß wird Rekristallisation genannt. Er besteht in einem Einbau von Ca^{++} oder PO_4^{---} in das Innere der Kristalle.

3) Das Skelett als Mineraldepotorgan.

In den Knochenmineralien hat der Organismus eine große Reserve an Calcium und Phosphor, auf die er im Bedarfsfalle zurückgreifen kann.

Nach WERNLY (7) ist ohne diese im Skelett deponierte Mineralreserve eine Konstanterhaltung des Calcium- und Phosphat-spiegels im sogenannten "milieu interne" nicht möglich. WERNLY sieht in den bereits beschriebenen Ionenaustauschvorgängen an der Oberfläche der Knochenkristallite eine Möglichkeit, rasch eintretende Mineralverluste des Organismus durch Mobilisation von Mineralsubstanz aus dem Skelett zu kompensieren. Nach Untersuchungen mit Ca^{45} soll in weniger als zwei Tagen die Hälfte des gesamten Skelettkalkes gegen Calciumionen des Blutes ausgetauscht werden. Die Dynamik der Austauschvorgänge wird zurückgeführt auf die Kleinheit der Einzelkristalle und die daraus resultierende enorme Oberflächenentwicklung der Knochenmineralsubstanz. Durch ein in der organischen Matrix verlaufendes hypothetisches Wasserkanalsystem, das mit der extracellulären Flüssigkeit in Verbindung steht und daher auch die gleiche Zusammensetzung aufweist wie diese, steht der Einzelkristall in direkter Verbindung mit der extracellulären Flüssigkeit. Einzelne kompakte Skelettpartien scheinen allerdings von diesem im Knochengewebe verlaufenden Wasserkanalsystem ausgeschlossen zu sein und daher nur für sehr langsame Austauschvorgänge in Frage zu kommen, die mit einer Destruktion des gesamten Knochengewebes einschließlich der Knochenmatrix einhergehen.

Auch LANG (26) sieht in den im Skelett deponierten Mineralien eine Calcium- und Phosphatreserve, auf die der Organismus zurückgreift, wenn er seine Verluste an Calcium und Phosphat nicht durch die alimentäre Zufuhr decken kann. Im Gegensatz zu WERNLY (7), der in den oberflächenchemischen Vorgängen an den Knochenkristalliten den wesentlichen Wir-

kungsmechanismus sieht, mit Hilfe dessen die Skelettmineralien im Bedarfsfalle mobilisiert werden, betont LANG (26), daß die nicht vitalen Austauschprozesse an den Kristallitoberflächen zur Aufrechterhaltung der Konstanz der Ca^{++} - oder PO_4^{---} -Konzentrationen im Blut nicht benutzt werden können. Nach LANG (26) ist das Skelett kein Mineralspeicher in dem Sinne, daß eine Demineralisierung des Knochens eintritt. Vielmehr werden im Bedarfsfalle sowohl die Mineralstoffe als auch die organische Matrix abgebaut. Durch Resorption von Knochensubstanz kann der Organismus die Konzentration von Calcium und Phosphat im Blut aufrechterhalten und den anderweitigen Ansprüchen gerecht werden. Diese Resorption der Knochensubstanz ist aber ein vitaler Prozeß, der nur unter der Beteiligung von Osteoklasten, also von Zellen, abläuft. Nach erfolgter Resorption bemüht sich der Organismus, die Verluste durch Neubildung von Knochensubstanz wieder zu ersetzen. Eine Neubildung läßt sich häufig auch dann beobachten, wenn die Verhältnisse hierzu keineswegs optimal sind, die Calciumzufuhr etwa relativ gering ist.

In diesem Zusammenhang sei auf neuere Untersuchungen von HARRISON und FRASER (33) hingewiesen, die mit Hilfe von radioaktivem Strontium im Tierversuch an Lister-Ratten zeigen konnten, daß bei Verfütterung einer Ca-Mangelkost bei gleichzeitigen Zulagen von Phosphaten und Vitamin D die Retention von radioaktivem Strontium wesentlich stärker war als bei den normal ernährten Kontrolltieren, woraus auf eine verstärkte Knochenneubildung bei den Ca-Mangelratten geschlossen wird. Die bei den Versuchstieren unter der genannten Mangeldiät auftretende schwere Osteoporose wird von den Autoren dahingehend erklärt, daß neben der verstärkten Knochenneubildung gleichzeitig der Knochenabbau in noch stärkerem Maße gesteigert ist. Es wird vermutet, daß der beschleunigte Knochenumbau mit negativer Bilanz durch Vitamin D und eine vermehrte Parathormonausschüttung gesteuert wird mit dem Ziele, den Serumcalciumspiegel zu stützen. Die Versuchs-

ergebnisse von HARRISON und FRASER (33) widersprechen der konventionellen Ansicht, daß die Ca-Mangelosteoporose auf einem verminderten Knochenanbau bei normalem Abbau beruhe.

II. Über den Aufbau der harten Zahnsubstanzen und die Bedeutung des Mineralstoffwechsels für das Zahnsystem.

1) Allgemeines.

Im Zusammenhang mit der Frage eines Mineralstoffwechsels der harten Zahnsubstanzen ist der stoffliche Aufbau und die Struktur derselben von Bedeutung, da Stoffwechselvorgänge sich an diesen Formelementen abspielen müssen.

2) Über die Struktur und chemische Zusammensetzung der Zahnhartsubstanzen.

Der Schmelz ist ein Gewebe, das weder Zellen noch Blutgefäße besitzt. Er besteht zu etwa 2 - 4 % aus organischer und zu 96 - 98 % aus anorganischer Substanz. Im histologischen Bild (34) zeigt sich, daß der Schmelz aus Prismen von sechseckiger Form zusammengesetzt ist, die in annähernd radiärer Anordnung vom Dentin bis zur Schmelzoberfläche ohne Unterbrechung verlaufen. Zwischen den einzelnen Prismen ist nach der Lichtmikroskopie eine interprismatische Substanz eingelagert, die minder verkalkt sein soll. Sie wird auch oft als Kittsubstanz bezeichnet, obwohl eine Kittfunktion nicht erwiesen ist. An der Oberfläche des Schmelzes geht sie in das Schmelzoberhäutchen über.

In neuerer Zeit konnte HELMCKE (35) durch elektronenmikroskopische Untersuchungen nachweisen, daß die kleinsten Bauelemente des menschlichen Schmelzes Monokristalle aus Hydroxylapatit sind. Diese Kristalle haben eine Länge von 500 bis 1000 m μ und eine Breite von 5 bis 10 m μ . Interessant

ist, daß diese Kristalle nicht regellos in den einzelnen Schmelzprismen verteilt sind, sondern, wie HELMCKE (35) mit Hilfe von Stereoaufnahmen nachweisen konnte, eine fächerförmige Orientierung zeigen. Für die Existenz der bereits erwähnten interprismatischen Substanz, wie sie lichtmikroskopisch beobachtet werden konnte, bietet sich nach HELMCKE (35) elektronenoptisch kein Anhalt.

Das Dentin der menschlichen Zähne ist in seiner Struktur völlig anders als der Schmelz. Die gesamte Grundsubstanz des Dentins wird (34) vom Pulpenkavum bis zur Dentinoberfläche in radiärer Richtung von Dentinkanälchen durchzogen, in denen die Fortsätze der Odontoblasten verlaufen. Nahe der Pulpa in unmittelbarer Nähe der Odontoblasten liegt das noch unverkalkte Prädentin, das bei Bedarf auch nach Abschluss der Zahnentwicklung von den Odontoblasten weiter gebildet werden kann und nach seiner Verkalkung als sogenanntes Ersatzdentin eine wichtige Rolle bei der Karies spielt. Der Gehalt des Dentins an organischer Substanz wird mit 28 % angegeben. Die anorganische Substanz besteht aus Hydroxylapatit.

Das in Abschnitt I, 2) über die Verwendung des Begriffes Hydroxylapatit für die anorganische Knochensubstanz Gesagte gilt nach MINDER und GORDONOFF (29) in gleicher Weise auch für die anorganische Dentinsubstanz.

Nach SCHMIDT (36) besteht die organische Substanz des Dentins aus Kollagenfibrillen, die durch eine mucöide Grundmasse verkittet sind. In diese letztere wird phosphorsaurer Kalk kristallin - als Hydroxylapatit - abgelagert, während die Fibrillen unverkalkt bleiben. PO_4 -Ionen, aus organischen Phosphorverbindungen abgespalten, vereinen sich mit Ca-Ionen, die aus der Blutflüssigkeit stammen, zu tertiärem Calciumphosphat. Einzelne dieser Molekeln werden von den Kollagenfibrillen orientiert aufgenommen, und an diese setzen, raumgittermäßig geordnet, weitere an, so daß Kristallite entstehen, deren negative optische Achse der positiven der Kol-

lagenfasern parallel geht. Die Globuli im Zahnbein sollen dann entstehen, wenn der Kalk seinem eigenen sphäritischen Ordnungsstreben gemäß sich anlagern kann.

Die chemische Zusammensetzung der Zahnhartgewebe wurde vielfach untersucht.

Nach LEIMGRUBER (27) bestehen die Zahnhartgewebe Schmelz, Dentin und Zement immer aus drei Komponenten. Erstens aus einer organischen Komponente, dem Zahnprotein, zweitens aus einer anorganischen Komponente, dem Zahnmineral und drittens aus Wasser. In Tabelle 1 ist das prozentuale Verhältnis dieser drei Komponenten angegeben.

	Schmelz	Dentin	Zement
Mineral	96,0 %	69,3 %	46,0 %
Protein	1,7 %	17,5 %	22,0 %
Wasser	2,3 %	13,2 %	32,0 %

Tabelle 1: Zusammensetzung der Zahnhartgewebe
(nach LEIMGRUBER (27)).

Hinsichtlich der chemischen Zusammensetzung ist nach LEIMGRUBER (27) das Zahnprotein ein mittels zahlreicher Aminosäuren aufgebautes Polypeptid mit Haupt- und reaktionsfähigen Seitenketten. Das Schmelzprotein soll als keratinähnlich, das Dentinprotein als kollagenähnlich betrachtet werden können, wobei der submikroskopische Aufbau der beiden Eiweißstoffe generell derselbe ist. Der Mineralanteil des Zahnes besteht zur Hauptsache aus Phosphat und Calcium. In Tabelle 2 (s. 16) ist die Verteilung von Calcium und Phosphor auf die verschiedenen Zahnhartgewebe zusammengestellt.

	Schmelz	Dentin	Zement
Calcium (Ca)	36,1 %	35,3 %	35,5 %
Phosphor (P)	17,3 %	17,1 %	17,1 %

Tabelle 2: Calcium- und Phosphorgehalt der Zahnhartgewebe (nach LEIMGRUBER (27)).

BÜTTNER (37) untersuchte den Gehalt an Calcium und Phosphor und anderen Mineralien in Schmelz und Dentin bei verschiedenen Species und fand für den Menschen in der Asche des Schmelzes einen Gehalt von 37,2 % Calcium und 18,0 % Phosphor, in der Asche des Dentins einen Gehalt von 36,1 % Calcium und 17,7 % Phosphor.

3) Die physikalische Härte der harten Zahnsubstanzen.

Die physikalische Härte der harten Zahnsubstanzen dürfte hauptsächlich abhängig sein vom Grade ihrer Mineralisation. Je mehr anorganische Substanz das Zahnhartgewebe enthält, um so größeren Widerstand vermag es eindringenden Körpern entgegenzusetzen. So ist auch der Zahnschmelz mit etwa 96 % anorganischer Substanz wesentlich härter als das Dentin, welches nur etwa 72 % anorganische Substanz enthält.

DEAKINS (38) untersuchte an Schweineezähnen während der Kalzifizierungsperiode den Gehalt des Schmelzes an Asche, Wasser und organischer Substanz und führte außerdem Härtemessungen durch. Der genannte Autor stellte fest, daß im Verlaufe des Kalzifizierungsprozesses mit zunehmender Vergrößerung des Gehaltes des Schmelzes an anorganischem Material auch die Härte der untersuchten Proben zunahm.

Neben dem Mineralisationsgrad sind aber auch noch andere Faktoren zu berücksichtigen, die für die Härte des Zahnes

eine wichtige Rolle spielen können. Hier dürfte neben der Zahnstruktur auch die Zusammensetzung und Konfigurations-einlagerung der Mineralsalze und nicht zuletzt auch der Flüssigkeitsgehalt, auf den TOTAH (39) hinweist, von Bedeutung sein.

CRAIG, GEHRING und PEYTON (40) nehmen eine Beziehung der Struktur zu der Mikrohärtigkeit des menschlichen Dentins an. Die genannten Autoren fanden, daß bei frisch extrahierten menschlichen Zähnen das Dentin in der Nähe der Schmelzdentingrenze und das Dentin nahe der Pulpa weicher war als das umgebende Dentin.

Bei tierexperimentellen Untersuchungen von HERRMANN (41) und HERRMANN und ROZEIK (42) bewirkten Fluorgaben eine Erhärtung des Schmelzes fertig entwickelter und durchgebrochener Molaren, eine Beeinflussung der Dentinhärte konnte nicht festgestellt werden. Die Verabreichung von Fluor in toxischer Dosierung während der Entwicklung von Schmelz und Dentin hatte eine Verminderung der Schmelz- und Dentinhärte zur Folge. Je mehr Fluor verabreicht wurde, desto geringer war die Härte des Zahnes. Nach der allgemeinen Ansicht scheint das Fluorion zu dem Kristallgitter des Hydroxylapatits der anorganischen Zahnschubstanz in Beziehung zu treten. Somit könnte die von HERRMANN (41) und HERRMANN und ROZEIK (42) gefundene Härteänderung der harten Zahnschubstanzen, insbesondere die Verminderung der Härte nach toxischen Fluorgaben, in Vorgängen zu suchen sein, die sich an den Kristalleinheiten der anorganischen Zahnschubstanz abspielen.

In diesem Zusammenhang sei auf die Untersuchungen von MINDER und GORDONOFF (29) hingewiesen, die feststellten, daß nach der Behandlung mit Fluor die Knochenschubstanz der Versuchstiere einen höheren Wassergehalt aufwies als die der Kontrolltiere. Die Aussagen über den erhöhten Wassergehalt beziehen sich auf den im Hydratationsmantel der Knochenschubstanz gebundenen Wasseranteil und sollen pro Elementar-

zelle Apatit ziemlich genau 5 Moleküle H_2O betragen. Die genannten Autoren glauben, daß mit dieser Vermehrung des gebundenen Wassers nach Fluorgaben eine Auflockerung des molekularen Bauegefüges der anorganischen Knochensubstanz verbunden sei.

Über den Einfluß des Flüssigkeitsgehaltes auf die Härte des Dentins berichtet TOTAH (39), der an Zähnen, die 6 bis 12 Wochen an der Luft bei Zimmertemperatur getrocknet worden waren, eine deutliche Zunahme der Härte im Dentin gegenüber den im frischen Zustand gemessenen Werten feststellen konnte.

4) Die Bedeutung des sogenannten Dentinliquors.

In neuerer Zeit wurden umfangreiche experimentelle Untersuchungen zur Frage des Dentinstoffwechsels insbesondere von SPRETER VON KREUDENSTEIN, STÜBEN, OHLENBUSCH und KNOTHE (12 - 24) durchgeführt.

SPRETER VON KREUDENSTEIN (12) stellte fest, daß sich im Dentin vitaler Zähne ein flüssiger Kanälcheninhalt befindet, der als Dentinliquor bezeichnet wird und der wegen seines niedrigen Eiweißgehaltes mit dem Blutplasma nicht identisch sein kann. Die Bestimmung des Eiweißgehaltes im Dentinliquor (18) ergab, daß dieser nur etwa 1,67 % der Serum-eiweißmenge enthält.

Papierelektrophoretische Untersuchungen der Zusammensetzung der Dentinliquorproteine von STÜBEN und SPRETER VON KREUDENSTEIN (17) ergaben, daß die im Dentinliquor gelöst vorhandenen Proteine mit den Serumproteinen vom gleichen Individuum nicht nur bezüglich der Zahl und Wanderungsgeschwindigkeit der Fraktionen, sondern auch hinsichtlich der relativen prozentualen Verteilung der einzelnen Komponenten so gut wie vollkommen übereinstimmen.

Durch papierchromatographische Untersuchungen konnten SPRETER VON KREUDENSTEIN und STÜBEN (16) in dem flüssigen Kälcheninhalt kariesfreier Zähne außerdem das Vorhandensein freier Aminosäuren nachweisen. Am häufigsten fanden sich die Aminosäuren: Serin, Glutaminsäure, Asparaginsäure, Alanin, Phenylalanin, Valin und Leucin. Die Konzentration jeder einzelnen Aminosäure erwies sich im Dentinliquor als wesentlich höher als im Serum.

Durch polarometrische Bestimmung konnte STÜBEN (13) nachweisen, daß das Dentin vitaler Zähne bis zu 5 Stunden nach der Extraktion einen meßbaren Sauerstoffverbrauch aufweist. Beim Dentin devitaler Zähne gelang ein solcher Nachweis nicht.

OHLENBUSCH, STÜBEN und SPRETER VON KREUDENSTEIN (19) untersuchten frisch extrahierte menschliche und tierische Zähne auf ihren Gehalt an alkalischen Phosphatasen und fanden durch biochemische Untersuchung von unter bestimmten Voraussetzungen gewonnenen Eluatn reiner zementfreier Proben von Wurzeldentin, daß im Dentinininneren normalerweise immer relativ große Phosphatasemengen vorhanden sind. Für den Dentinliquor menschlicher Zähne wurde ermittelt, daß die sogenannte spezifische Phosphataseaktivität etwa zehnmal größer ist als im Serum.

In weiteren Untersuchungen konnte SPRETER VON KREUDENSTEIN (20) in Dentineluatn von Rinder- und Schweinezähnen durch Fermentaktivitätsbestimmungen mit Hilfe der optischen enzymatischen Testmethoden das Vorhandensein der glycolytischen Enzyme Aldolase und Milchsäuredehydrogenase (MDH) sowie der Aminopherasen Glutamat-Pyruvat-Transaminase (GPT) und Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) nachweisen. Während die Aldolase im Dentinliquor nur etwa $1/5$ der Aktivität des Serums aufweist, zeigt die MDH im Dentinliquor einen Wert, der den des Serums um das Sechsfache übertrifft. Die GPT zeigt im Dentinliquor einen etwa doppelt so hohen, die GOT einen etwa gleich hohen Aktivitätswert wie im Serum des

entsprechenden Individuums. Außerdem wurden die Konzentrationen der Substrate bestimmt, die an der von der MDH katalysierten Reaktion teilnehmen. Der Milchsäuregehalt erwies sich im Dentinliquor als deutlich höher, dagegen der Brenztraubensäuregehalt als wesentlich niedriger als im Serum. Während der Quotient MS/BTS im Dentinliquor einen Wert aufweist, der den des Serums um ein mehrfaches übertrifft, ergibt die Summe des Gehaltes an Milchsäure und Brenztraubensäure im Dentinliquor praktisch den gleichen Wert wie im Serum.

Faßt man die aufgeführten Befunde zusammen, so kann gesagt werden, daß es sich bei dem Dentinliquor um eine wasserklare, zellfreie, relativ eiweißarme Flüssigkeit handelt, in der sich Mineralien und Zucker (15), Proteine, freie Aminosäuren und Fermente nachweisen lassen. Hinsichtlich seines Eiweißgehaltes kann der Dentinliquor weder mit dem Serum noch mit anderen Körperflüssigkeiten, wie z.B. dem Liquor cerebrospinalis oder dem Augenkammerwasser, verglichen werden. Dagegen stimmen die im Dentinliquor gelösten Proteine, was die relative prozentuale Verteilung der einzelnen Komponenten sowie die Zahl und Wanderungsgeschwindigkeit der Fraktionen im Elektrophoresediagramm anbetrifft, mit den Serumproteinen so gut wie vollkommen überein. Dentinliquor ist also eine extravasale Flüssigkeit von speziellem Charakter.

Wie SPRETER VON KREUDENSTEIN (24) berichtet, haben weitere Untersuchungen ergeben, daß der Dentinliquor nicht nur der flüssige Inhalt der Dentinkanälchen ist, sondern daß das gesamte Dentin, also auch die Zwischenräume zwischen den Kristalliten und den von ihnen umgebenen kollagenen Fasern, von Flüssigkeit durchtränkt ist. Der Dentinliquor wird daher auch als interstitielle Hartgewebsflüssigkeit bezeichnet.

Auf Grund der Untersuchungen von SPRETER VON KREUDENSTEIN und Mitarb. (12 - 20, 24) über die Zusammensetzung des Den-

tinliquors kann angenommen werden, daß zwischen Blut und Dentinliquor ein Stoffaustausch stattfindet und daß außerdem im Inneren des Dentins vitaler Zähne bestimmte Stoffwechselvorgänge von statten gehen können, unter ihnen auch solche, die zur Reaktionskette der biologischen Oxydationen gehören.

Weitere Beweise für einen Stoffaustausch zwischen Blut und Dentinliquor lieferten experimentelle Untersuchungen von SPRETER VON KREUDENSTEIN, STÜBEN und KNOTHE (22), sowie von STÜBEN (21), die sich mit der Frage des Übertritts körperfremder Stoffe vom Blut in den Dentinliquor befaßten. Die genannten Autoren wiesen nach, daß sowohl parenteral verabreichte Penicilline (22) als auch Sulfonamide (21) in den Dentinliquor übertreten können.

Dieser Stoffaustausch zwischen Blut und Dentinliquor scheint in der Hauptsache auf dem Wege über die Pulpa zu erfolgen. Jedoch ist auch ein Ionenaustausch über das Parodontium vorhanden, wie Versuche mit radioaktivem P^{32} an pulpenlosen Zähnen gezeigt haben, wobei etwa 10 % der Menge P^{32} , die im Dentin gefunden wurde, aus dem Parodontium stammen soll (23).

Es besteht also eindeutig eine Beziehung zwischen Blut und Dentinliquor. Weiterhin weist der Dentinliquor eine gewisse Fermentaktivität und einen meßbaren O_2 -Verbrauch auf, was auf den Ablauf bestimmter Stoffwechselvorgänge im Inneren des Dentins hindeutet. Da ferner das gesamte Dentinegewebe von eben diesem Dentinliquor durchtränkt sein soll, liegt es nahe, den Stoffaustausch- und Stoffwechselvorgängen im Dentinliquor eine Bedeutung für Struktur und Zusammensetzung der Dentinsubstanz beizumessen in dem Sinne, daß die Dentinsubstanz vitaler Zähne durch Vermittlung des Dentinliquors an den Stoffwechselvorgängen im Organismus partizipiert.

III. Die Rachitis als Stoffwechselstörung.

1) Allgemeines

Die erste Mitteilung über das Krankheitsbild der Rachitis stammt wohl von WHISTLER (43), der im Jahre 1645 eine Erkrankung englischer Kinder, genannt "The Rickets", beschrieb. Der heutige Name Rachitis leitet sich von dem griechischen Wort *rhachis*, der Wirbel, ab und wurde 1650 von GLISSON (44) geprägt, bei dem sich auch erstmalig eine ins einzelne gehende Beschreibung des Krankheitsbildes der Rachitis findet. Möglicherweise auf Grund der Beschreibungen dieser englischen Autoren wurde die Rachitis in Deutschland auch unter dem Namen "Englische Krankheit" bekannt, oder aber die auffallende Häufigkeit der Krankheit gerade in England war der Anlaß zu dieser Namensgebung. Schon früh wurde erkannt, daß durch die Verabreichung von Lebertran die Rachitis geheilt werden konnte, und die Ursache der Rachitis in einer mangelhaften Ernährung vermutet, aber erst zu Anfang dieses Jahrhunderts wurde die Hypothese aufgestellt, daß für die Entstehung der Krankheit das Fehlen eines bestimmten Stoffes in der Nahrung verantwortlich zu machen sei. Die Suche nach einem Stoff mit spezifisch antirachitischer Wirksamkeit fand einen gewissen Abschluß mit der Entdeckung des Vitamins D. Seitdem wurde die Rachitis als eine Vitamin D-Mangelkrankheit aufgefaßt (45).

2) Störungen des Verknöcherungsprozesses.

Die auffallendsten Symptome der Rachitis zeigen sich am Skelettsystem. Die rachitischen Veränderungen des Knochens bestehen nach LANG (26) in einer unzureichenden Verkalkung des neu zu bildenden Knochens und, bei längerem Bestehen, auch in einer zunehmenden Entkalkung des vorher normalen Knochens. Bei der Rachitis ist das gesamte Knochensystem befallen, die Intensität ist jedoch bei den einzelnen Knochen unterschiedlich, und zwar findet man die schwersten Veränderungen an den Teilen des Skeletts, die am raschesten wachsen.

Bei der regelrechten Knochenentwicklung spielt die Kalksalzablagerung an zwei Stellen eine wichtige Rolle. Einmal im Bereiche der enchondralen Ossifikation, wo zunächst präparatorische Verkalkung als Vorbedingung für den weiteren Verkalkungsprozeß erfolgen muß, zum anderen bei der Verkalkung der von den Osteoblasten gebildeten Knochengrundsubstanz. Die Vorgänge im Bereiche der enchondralen Ossifikation, also die Vorgänge in und um den Epiphysenknorpel, lassen sich nach HAMPERL (46) im histologischen Bild folgendermaßen beschreiben. Geht man von der Oberfläche des Knorpels aus und verfolgt seine Umwandlung schichtweise bis zur Markhöhle, so findet man zunächst die Zone des sogenannten ruhenden Knorpels, die von kleinen typischen Knorpelzellen, die in hyaline Grundsubstanz eingebettet sind, gebildet wird. Es schließt sich eine Zone an, in der die Knorpelzellen gewuchert sind, die sogenannte Knorpelwucherungszone. Hier liegen die einzelnen durch Teilung einer Knorpelzelle entstandenen Zellindividuen in Gruppen nebeneinander. Weiter gegen die Markhöhle hin werden die gewucherten Knorpelzellen durch Wasseraufnahme blasig und ordnen sich durch gegenseitigen Druck zu Zellsäulen an. Diese Zone wird als Zone des Säulen- bzw. großblasigen Knorpels bezeichnet. In der darauffolgenden Schicht sterben die Knorpelzellen ab, während sich zugleich die Knorpelgrundsubstanz mit Kalksalzen belädt. Dies ist die Zone der sogenannten präparatorischen Verkalkung. Die verkalkten Scheidewände zwischen den einzelnen Knorpelzellen werden nunmehr durch die vom Mark her eindringenden Kapillarsprossen und durch vielkernige Riesenzellen, Chondroklasten, eingeschmolzen, so daß die Knorpelzellhöhlen eröffnet werden. Daher heißt diese Zone auch Eröffnungszone. Die der Einschmelzung entgangenen, hauptsächlich längs gestellten Scheidewände erhalten nun einen Überzug von Knochen- substanz, den die zu Osteoblasten umgewandelten Bindegewebszellen des Marks liefern. So entstehen kleine Knochenbälkchen, die noch Reste verkalkter Knorpelgrundsubstanz einschließen. Diese, als primäre Spongiosa bezeichneten Knochenbälkchen werden - jedenfalls teilweise - bald wieder

durch Osteoklasten abgebaut und durch Neuauflagerung von Knochen in Form und Aussehen umgewandelt. Es entsteht die sogenannte sekundäre Spongiosa.

Bei der Rachitis ist die Verkalkung der präparatorischen Verkalkungszone gestört. Die regelmäßige Vascularisation, bei der von den Markgefäßen abstammende Gefäßsprossen an alle Punkte der Ossifikationsebene gleichzeitig und in gleicher Höhe herantreten, wobei jede Knorpelzellsäule von je einer Gefäßspresse eröffnet wird, geht verloren. Nur ein Teil der Marksprossen mit den zugehörigen Kapillarschlingen dringt in die präparatorische Verkalkungszone vor (HOFF (47)). Die gleichmäßige Einsmelzung der Knorpelzellen unterbleibt, wodurch die sogenannte Verknöcherungszone unregelmäßig wird. Neben normaler Spongiosa finden sich unverkalktes Osteoid und eingesprengte Knorpelzellen. Diese Knorpelzellen werden nicht abgebaut, vergrößern sich und führen zur Verbreiterung der Knorpelwucherungszone und damit zur Auftreibung im Bereiche der Metaphysen (HOFF (47)). Der gewucherte Knorpel springt mit unregelmäßigen, zackigen Ausläufern gegen die Markhöhle vor.

Neben der Störung der präparatorischen Verkalkung im Bereiche der enchondralen Ossifikation ist bei der Rachitis auch die Kalksalzablagerung in das von den Osteoblasten gebildete Osteoid gestört. Sie erfolgt verzögert oder überhaupt nicht, so daß die Knochen mit zunehmender Dauer der Erkrankung immer breitere osteoide Säume erhalten. Da unterdessen die Tätigkeit der Osteoklasten ungestört ist, die Resorption des vor Ausbruch der Krankheit richtig verkalkten Knochens in normaler Weise weitergeht, wird bei längerem Bestehen einer Rachitis die Knochensubstanz zu einem immer größer werdenden Teil aus Osteoid und immer weniger aus verkalktem Knochen bestehen. Auch das appositionelle Knochenwachstum ist bei der Rachitis gestört. Die periostalen Cambiumzellen bilden ebenfalls unverkalktes Osteoid. Dieses Osteoid bildet auch mehrschichtige schwammige Auflagerungen (Osteophyten).

Bei der Fragestellung, welche pathologischen Mechanismen bei der Rachitis wirksam werden und die charakteristischen Störungen des Verknöcherungsprozesses bedingen, scheint es zweckmäßig zu sein, zunächst einen Einblick in das Wissen über die Vorgänge bei der normalen Verknöcherung zu geben, das gerade in den letzten Jahren durch Feinstrukturmessungen vertieft wurde. Es kann allerdings nicht Aufgabe dieser Arbeit sein, eine lückenlose Darstellung des derzeitigen Wissens über den Prozeß der Verknöcherung zu geben, da dies bei der Vielzahl der bestehenden Hypothesen und dem Umstrittensein der einzelnen Probleme den gesetzten Rahmen bei weitem übersteigen würde. Es werden daher nur einige wesentliche Gesichtspunkte berücksichtigt, wobei teilweise auf bereits zusammenfassende Darstellungen zurückgegriffen werden muß.

Hinsichtlich der Bedingungen für die normale Verknöcherung sei eine Übersicht angegeben, die SCHLOSS (48) in Ergänzung eines Schemas von VIRCHOW aufstellte, und die bei dem allgemeinen Charakter ihrer Formulierungen auch heute noch erwähnenswert erscheint.

Die Bedingungen lauten:

1. ausreichend angeborener Mineralbestand
2. genügende Mineralzufuhr im geeigneten Milieu
3. Überführung in aufnahmefähige Form
4. passendes Milieu im Darm (Bakterienflora, Reaktion, Sekrete, Fermente)
5. richtige Verweildauer im Darm
6. Resorption in genügender Menge mit den für den weiteren Transport und die Resorption notwendigen Nahrungsbestandteilen
7. richtige Zusammensetzung des Blutes
8. normale Zirkulationsverhältnisse
9. normale Regulation des Stoffwechsels (innere Drüsen, Nerven)

10. normale Diffusionsmöglichkeit zwischen Gewebsflüssigkeit und Knochen
11. Aufnahmefähigkeit der Knochengrundsubstanz
12. normale Osteoblastentätigkeit
13. normale Dissimilations- und Exkretionsfähigkeit (Niere, Darm)

Die Hypothesen über den normalen Verkalkungsvorgang im Knochen lassen sich nach HOLTZ und SCHÜTTE (49) unter folgenden Gesichtspunkten gliedern:

1. Verkalkungsvorgänge durch Adsorptionsvorgänge
2. Verkalkung durch Ausfällung der Salze
3. Verkalkung durch enzymatische Vorgänge.

Die Vorstellung, daß die Verkalkungsstörungen im Knochen sich auf Adsorptionsvorgänge zurückführen lassen, stützt sich insbesondere auf die Untersuchungen von FREUDENBERG und GYÖRGY (50), die feststellten, daß Knorpel verkalkt, wenn man ihn zunächst in eine Calciumchloridlösung legt, anschließend abwäscht und in eine Natriumphosphatlösung bringt. Dabei soll sich zunächst eine Kalk-Eiweiß-Verbindung bilden, die dann ihrerseits Phosphat aufnimmt, so daß es in einer dritten Reaktion unter Abspaltung von Calciumphosphat, möglicherweise unter aktiver Beteiligung der Osteoblasten, zur Bildung des Knochenminerals kommen könnte. Da sich dieser Vorgang in allen Geweben abspielen müßte, werden sogenannte Hemmungskörper angenommen, wie z.B. Aminosäuren, Amine, CO_2 , die die Bildung der Calcium-Eiweiß-Verbindung stören. Gegen die Annahme der Bildung einer solchen Kalk-Protein-Verbindung lassen sich nach der Auffassung von LANG (26) jedoch viele Umstände anführen, nicht zuletzt der, daß hierfür unphysiologisch hohe Ca-Konzentrationen erforderlich wären.

Hinsichtlich der Anschauung, daß die Einlagerung der anorganischen Knochensubstanz in die organische Matrix im Sinne eines Ausfällungsprozesses aufgefaßt werden kann, sei LOGAN (51) angeführt, nach dessen Ansicht bei der Mineralisation

zuerst das sekundäre Phosphat CaHPO_4 entstehen soll, das sich dann rasch unter Abgabe von Phosphat in einen Apatit umlagern kann.

Die Ansicht von LOGAN (51) steht im Widerspruch zu den Untersuchungen von HIRSCHMAN, SOBEL und FANKUCHEN (52), die bei der Beobachtung der Kalzifizierung in vitro im Röntgendiagramm keinen Anhalt dafür fanden, daß zunächst CaHPO_4 entsteht, sondern immer nur die einem Apatit entsprechenden Linien erhielten.

Die Theorie, daß die Kalzifizierung ein einfacher Ausfällungsprozeß sei, wird auch von NEUMAN und NEUMAN (30) abgelehnt. Diese Autoren halten die Bildung einer festen Phase von Apatit nur für möglich durch einen Kristallisationsprozeß, sei es durch Anlagerung der Ionen an ein schon bestehendes Kristallgitter, sei es durch Anlagerung an ein Kristallisationszentrum.

Die besprochenen Hypothesen, die die Kalzifizierung auf Grund von physiko-chemischen Gesetzmäßigkeiten zu erklären versuchen, lassen die Frage unbeantwortet, warum trotz gleicher Ca^{++} - und PO_4^{---} -Konzentrationen die Verknöcherung nicht in allen Geweben und auch beim Knorpel nur an einer bestimmten, anatomisch festgelegten Verkalkungszone auftritt. Es müssen daher noch andere Faktoren von Bedeutung sein, die lokal, also am Orte der Verknöcherung selbst, wirksam werden, wobei insbesondere enzymatische Vorgänge eine Rolle spielen sollen.

ROBINSON (53) stellte die Hypothese auf, daß die alkalische Phosphatase, die überall da, wo sich Verknöcherung abspielt, in hoher Aktivität vorkommt, aus in der hypertrophierten Knorpelzelle vorhandenen Phosphorsäureestern Phosphat abspaltet, und daß damit das Löslichkeitsprodukt $\text{Ca}^{++} \times \text{PO}_4^{---}$ überschritten wird. Dies würde dann zur Calciumphosphatfällung führen.

Wie LANG (26) anführt, wurde in neuerer Zeit nachgewiesen, daß im verkalkenden Knochen die bei der Glykogenolyse und bei der Glykolyse beteiligten Enzyme vorhanden sind und daß der Knorpel Glykogen enthält. Die Glykogenolyse und Glykolyse sind offensichtlich zur Kalzifizierung unerläßlich. Dem Knochen zugeführtes anorganisches Phosphat wird nicht direkt zur Verknöcherung benutzt, sondern erst nachdem es in organische Bindung übergeführt war. Untersuchungen über die Beteiligung der einzelnen, als Intermediärprodukte bei der Glykolyse fungierenden Phosphatester haben ergeben, daß offensichtlich nur ein bestimmter (oder einige) Phosphatester als unmittelbarer Phosphatdonator wirken kann, dessen Natur noch unbekannt ist.

Auf die Bedeutung der Chondroitinschwefelsäure bei der Verkalkung des Knochens weisen BOYD und NEUMAN (54) hin. Nach den genannten Autoren soll ein nur an Ca verarmter Knorpel in vitro erheblich mehr Calcium aus der Lösung aufnehmen, als ein nicht nur an Calcium, sondern auch an Chondroitinsulfat verarmter Knorpel.

Ferner wird der Einfluß der Zitronensäure auf die Kalzifizierung diskutiert. Wie LANG (26) anführt, ist die Zitronensäure im Knochen möglicherweise ein wichtiger Faktor für die Regulation der Intensität der Verkalkung bzw. für die Wiederauflösung schon abgelagerter Mineralsubstanz. Über 90 % des gesamten Zitronensäurebestandes des Organismus sollen im Skelett liegen. Der genannte Autor weist in diesem Zusammenhang auch auf andere organische Säuren, wie Malat, Akonitat, Sukzinat, Laktat und Fumarat hin, die im Knochen in relativ hohen Konzentrationen nachgewiesen und als stoffwechselaktiv erkannt wurden.

WOLF (55) gibt im Zusammenhang mit der Wirkungsweise von Vitamin D einen Überblick über die Vorgänge, die sich bei der Verknöcherung abspielen sollen. Der genannte Autor schreibt:

Die Knorpelzellen synthetisieren Glykoproteide und geben sie ab. Die zwischen den Knorpelzellen liegenden Glykoproteide sind Chondroitinschwefelsäureproteide und vielleicht auch Phosphorproteide in Form ihrer löslichen Calciumsalze. Durch die Einwirkung des Vitamin D kommt es wahrscheinlich zu einer weitgehenden Verknüpfung dieser Proteide und dadurch zu einer Freisetzung von Calcium- und zum Teil auch PO_4^{---} -Ionen. Etwa zu derselben Zeit wird das in den Knorpelzellen reichlich vorhandene Glykogen abgebaut. Die entstehenden Spaltprodukte erhöhen den osmotischen Druck und begünstigen das Einströmen von Wasser, so daß es zu einer Quellung der Knorpelzellen kommt. Anschließend werden Glykogenspaltprodukte (Glukosephosphate) und Wasser an die Grundsubstanz abgegeben. Die gequollene Grundsubstanz ist lockerer und die Knorpelzellen können sich jetzt zu Säulen anordnen (Säulenknorpel). Die Spaltung des Glykogens in den Zellen geht weiter, so daß die Wasseraufnahme steigt, das Zellvolumen größer wird und die Zellen blasig aufgetrieben erscheinen (Gebiet des großblasigen Knorpels). Die durch Vitamin D aktivierte Phosphatase spaltet die Glukosephosphate, und die freigewordenen Phosphationen reagieren mit Calciumionen unter Bildung von Calciumphosphat. Hinzu kommt noch die Vermehrung des CO_2 infolge des erhöhten Stoffwechsels und die Bildung von CaCO_3 . So entstehen zu diesem Zeitpunkt an gewissen Stellen des Knorpels Kalkablagerungen, welche man Ossifikationspunkte bzw. präparatorische Verkalkungszone nennt. Der erhöhte Stoffwechsel des Knorpels ohne stärkeren Abtransport von Stoffwechselprodukten führt zur Anhäufung saurer Metabolite. Dieser entzündungsähnliche Zustand ist der Anreiz zu einer vom Periost ausgehenden Vaskularisation, bei der eine Periostknospe gegen den Ossifikationspunkt vorwächst. Mit dieser dringen auch die Bindegewebszellen des Periostes vor und lösen die Knorpelgrundsubstanz auf, in dem sie sich zu den Knorpelzellen durchfressen. Von der Knorpelgrundsubstanz bleiben geringe Reste stehen (Richtungsbälkchen). Der durch die eingedrungenen

Gefäße entstandene Hohlraum ist das Primordialmark. Es enthält Bindegewebszellen, freigesetzte Knorpelzellen und Blutzellen. Die eingedrungenen Bindegewebszellen (Osteoblasten) legen sich den Richtungsbälkchen epithelartig an und beginnen Osteoidsubstanz auszuscheiden.

In diesem Entwicklungszustand ist das Vorhandensein der oben beschriebenen Calciumsalze von ausschlaggebender Bedeutung, denn zur Bildung des Hydroxylapatites, der anorganischen Grundsubstanz des Knochens, ist eine gewisse alkalische Reaktionslage notwendig.

Das Osteoid muß eine ganz bestimmte Konstitution aufweisen, damit sich das Calcium in Form des Hydroxylapatits einlagert. Die hierzu erforderliche Verknüpfung der Polypeptidketten ist anscheinend an die Anwesenheit von Vitamin D gebunden. Bei seinem Fehlen kann das veränderte Osteoid Calciumsalze überhaupt nicht oder nur in anderer Form ablagern. Ähnliches gilt für den Knochenumbau bei Osteomalazie.

Ebenso komplex wie das in seiner Gesamtheit noch keineswegs geklärte Geschehen der normalen Verknöcherung sind die pathologischen Vorgänge, die sich bei der Rachitis am Knochen-System abspielen und die dazu führen, daß eine regelrechte Mineralisation der neugebildeten Grundsubstanz nicht zustande kommt.

Nach WILHELM (56) ist der Knochen ein komplexes, aus Knochenzellen, organischer Grundsubstanz und mineralischen Einlagerungen bestehendes System und muß als biologische Einheit betrachtet werden, wobei Störungen immer das gesamte System in Mitleidenschaft ziehen werden. Gerade die Rachitis kann als Beweis dafür gelten, daß eine normale Verknöcherung an die Unversehrtheit des gesamten Systems gebunden ist. Auf Grund eigener Untersuchungen und nach der Literatur stellt der genannte Autor (56) fest, daß bei der Rachitis folgende Störungen am Skelettsystem auftreten:

1. Mangelhafte Calciumsalzablagerung.
2. Fehlende Orientierung der Apatitkriställchen in der Längsachse der kollagenen Fibrillen.
3. Fehlerhafte Grundsubstanzbildung.
4. Zellstoffwechselstörungen in proliferierenden Knorpelzellen und Osteoblasten.

Da die Produktionsstätte der Grundsubstanz die Zelle ist und die Calciumfällung ebenfalls - ob indirekt über die Grundsubstanzbildung oder direkt - von den Zellen maßgeblich beeinflusst wird, scheint die Zellstoffwechselstörung die wesentlichste Ursache der rachitischen Veränderungen am Skelettsystem zu sein.

3) Störungen des allgemeinen Stoffwechsels außerhalb des Skelettsystems.

Mit dem Worte Rachitis verbindet sich im allgemeinen der Begriff einer besonderen Knochenerkrankung. Das trifft aber nur beschränkt zu, denn es handelt sich hier um eine tiefgreifende Änderung im gesamten Stoffwechsel, die allerdings am Knochensystem am deutlichsten sichtbar wird. Die Störungen des allgemeinen Stoffwechsels sind so mannigfaltig, daß an dieser Stelle eine eingehende Betrachtung nicht erfolgen kann. In neuerer Zeit gab WILHELM (57) auf Grund eigener Untersuchungen und nach der Literatur eine Übersicht über die bei der Rachitis aufgefundenen allgemeinen Stoffwechselstörungen außerhalb des Skelettsystems:

1. Allgemeinstörungen und humorale Störungen:
 - a) acidotische Stoffwechsellage
 - b) herabgesetzte anorganische Phosphatwerte im Blut bei normalen Werten in den Weichteilen
 - c) Steigerung der alkalischen Phosphataseaktivität
 - d) Herabsetzung der Adenosintriphosphorsäurewerte in Blut, Niere und Muskulatur
 - e) Herabsetzung der Colaminphosphatbildung in der Leber
 - f) Hemmung der Glykolyse im Blut
 - g) Hemmung der Vitamin B₁-Phosphorilierung

2. Darmresorptionsstörungen:

- a) Die Resorption von Calcium und sekundär von Phosphat ist bei der Rachitis vermindert

3. Nierenfunktionsstörungen:

- a) erhöhte Phosphatclearance
- b) Amnioacidurie

4. Nebenschilddrüse:

- a) wahrscheinlich erhöhte Hormonproduktion

4) Die Bedeutung des Vitamin D für die Pathogenese der Rachitis

Die Bedeutung, die dem Vitamin D in pathogenetischer Hinsicht bei der Rachitis zukommt, ist unbestritten, jedoch bestehen gegenwärtig noch keine exakten, ins speziellere gehende Kenntnisse seiner Wirkungsweise. Vitamin D greift in die Prozesse ein, welche sich bei der Verknöcherung des Skeletts, also der Ablagerung der Knochensalze in die vorgebildete organische Matrix abspielen. Da die Mineralphase des Knochens mit den Plasmamineralien in einem Gleichgewicht steht, sind alle Faktoren, welche mit der Aufrechterhaltung der normalen Konzentration von Calcium und Phosphat im Plasma verknüpft sind, im Zusammenhang mit der Wirkung von Vitamin D von Bedeutung. Die wichtigsten sind (26):

1. Die Resorption von Calcium und Phosphat aus dem Darm,
2. Die Ausscheidung von Calcium und Phosphat durch die Niere,
3. Die Ablagerung von Calcium und Phosphat in die organische Matrix, der sogenannte "lokale Faktor".

Vitamin D sorgt demnach (26) auf zwei verschiedenen Wegen für eine normale Konzentration der Knochenmineralien im Blut: durch Vergrößerung der Resorption von Calcium und gegebenenfalls auch der von Phosphat und durch eine Verminderung der Ausscheidung von Phosphat durch die Nieren. Die günstige Wirkung von Vitamin D auf die Phosphatbilanz wird als ein

sekundärer Effekt aufgefaßt, der über eine primäre Hemmung der Nebenschilddrüsenfunktion zustande kommen soll, wie aus Versuchen mit nebenschilddrüsenlosen Tieren geschlossen werden kann, bei denen die Phosphatausscheidung durch die Nieren vergrößert war. Die Hemmung der Nebenschilddrüse wäre demnach eine Gegenregulation infolge der drohenden Steigerung des Blutcalciums auf Grund der durch Vitamin D verursachten Vergrößerung der Calciumresorption.

Ob und in welcher Weise das Vitamin D in die sich im verkalkenden Knochen abspielenden Stoffwechselprozesse eingreift, ist noch nicht entschieden. Diskutiert (26) wird der Einfluß des Vitamin D auf den Zitronensäurestoffwechsel im Sinne einer Steigerung der Zitratkonzentration im Knochen, jedoch ist andererseits die Bedeutung der Zitronensäure für das Skelettsystem noch weitgehend ungeklärt. Ferner wird angenommen, daß Vitamin D durch Aktivierung der alkalischen Phosphatase auf die Verknöcherung einwirkt. Außerdem soll Vitamin D auch primär am Stoffwechsel der organischen Matrix angreifen. Ein Einfluß von Vitamin D auf den Aminosäurestoffwechsel konnte ebenfalls festgestellt werden.

FANCONI (58) faßt die Wirkungsweise des Vitamin D in folgenden Punkten zusammen:

1. Vitamin D fördert die Resorption von Calcium und Phosphat aus dem Darm,
2. Die Einlagerung von Calciumphosphat in den Knochen wird durch Vitamin D stark gefördert,
3. Die Phosphatrückresorption in den Tubuli der Nieren wird erhöht,
4. Vitamin D wirkt auf den Zitratsstoffwechsel ein,
5. Vitamin D begünstigt die tubuläre Rückresorption von Histidin und Aminosäuren.

IV. Die weiße Ratte als Versuchstier.

1) Allgemeines.

Für Untersuchungen im Rahmen der Kariesursachenforschung hat sich die weiße Ratte (*Mus norvegicus albinus*) als besonders gut geeignet erwiesen. ROZEIK (59) gibt hierfür mehrere Gründe an:

1. Die Natur ihrer Zähne und ihre Widerstandskraft.
2. Ihre schnelle und zahlreiche Vermehrung und ihre relativ schnelle Anpassung an kariogene Kostformen und andere Mangeldiäten.
3. Die Rattenmolaren bleiben nicht lange im Wachstum begriffen, im Gegensatz zu den Incisivi der Nagetiere, die eine offene Wurzel haben, oder im Gegensatz zum Meer-schweinchen und Kaninchen, deren Molaren auch offene Wurzeln haben und deshalb permanentes Wachstum aufweisen.

2) Das Zahnsystem der weißen Ratte.

Die Entwicklung der Zähne bei der Ratte beginnt nach RIETHE (60) mit einer leichten Verdickung der Mundhöhlenschleimhaut, wie man sie beim etwa 14 Tage alten Foetus findet. Hinsichtlich der einzelnen Zahnkategorien gibt HAGEMANN (61) an, daß das erste Auftreten einer Dentallamina als leichte Vorwölbung des Oralepithels bei den Incisivi am 14. Tage des intrauterinen Lebens, beim ersten Molaren am 13. Tage, beim zweiten Molaren zwischen dem 14. und 15. Tage und beim dritten Molaren am 20. Tage des intrauterinen Lebens erfolgt. Die Dentition ist monophyodont, die Eruptionszeit erstreckt sich über $3 \frac{1}{2}$ Wochen. Das Gebiß der weißen Ratte ist für die Ordnung der Nager charakteristisch. Im Ober- und Unterkiefer finden sich je zwei Nagezähne. Diese sind wurzellos und reichen im Kiefer weit zurück bis in die Region der Backenzähne. Sie zeichnen sich durch eine kräftige Krone aus. Durch das permanente Wachstum der Incisivi wird der beim Nagen entstehende Abschleiß an der Okklusionsfläche kompensiert. Diese

Abrasion ist so stark, daß das Primärdentin an der Okklusionsfläche in 125 Tagen (61) völlig abgenutzt ist. Auf der Labialseite und zum Teil auch an den Approximalflächen ist das Dentin mit Schmelz überzogen, während auf der lingualen, bzw. palatinalen Seite kein Schmelz vorhanden ist. Außer den Nagezähnen hat die Ratte im Ober- und Unterkiefer je 6 Molaren. Eckzähne und Prämolaren fehlen, was für das Zahnsystem der Ratte besonders kennzeichnend ist. Die Molaren besitzen Höcker und nehmen vom ersten bis zum dritten an Größe ab. Sie stehen im Kiefer eng zusammen und berühren sich in Form von Kontaktflächen. Mit Ausnahme der Höckerspitzen sind die Kronen der Molaren mit Schmelz umkleidet. Auf der Kaufläche finden sich Fissuren. Eine Übersicht über die makroskopische Anatomie des Rattengebisses gibt die Tabelle 3 (S. 36).

Die Hartsubstanzen der Rattenzähne stimmen in Aufbau und Zusammensetzung im wesentlichen mit den Hartsubstanzen menschlicher Zähne überein.

Nach HAGEMANN (61) besteht der Schmelz zu etwa 96 - 98 % aus anorganischem Material. 90 % sind Calciumphosphat, der Rest Calciumcarbonat, Magnesiumphosphat, Fluorcalcium und Spurenelemente.

Das Dentin stellt die Hauptmasse des Zahnes dar. Der Anteil der anorganischen Substanz beträgt 72 %. Davon sind 67 % Calciumphosphat. Von der Pulpa zur Oberfläche wird das Dentin von feinen Kanälchen durchzogen, welche die Dentinfortsätze der Odontoblasten enthalten. Da die Verkalkung des Dentins nicht gleichmäßig ist, entstehen Zonen stärkerer und schwächerer Verkalkung, die sich als Konturstreifen oder Owesche Linien abzeichnen.

	Zahl der Zähne		Zahl der Höcker	Zahl der Fissuren	Zahl der Wurzeln	Druch- bruch	Bemer- kungen
	OK	UK	pro Zahn und ihre Verteilung	pro Zahn	pro Zahn	Tage n. d. Geburt	
Nagezahn	2	2	-	-	1	9-10	offene Wurzel (perma- nentes Wachstum)
I. obe- rer Molar	2	-	5 (3 buccal 2 palatinal)	2	5	16	nach ab- geschlos- senem Wachstum keine offene Wurzel
I. unte- rer Molar	-	2	6 (4 buccal 2 lingual)	3	4	17	dito
II. obe- rer Molar	2	-	4 (2 buccal 2 palatinal)	2	4	22	dito
II. unte- rer Molar	-	2	4 (2 buccal 2 lingual)	2	3	21	dito
III. obe- rer Molar	2	-	3 (2 palatinal 1 buccal)	2	3	38	dito
III. unte- rer Molar	-	2	3 (2 mesial 1 distal)	1	3	29	dito

Tabelle 3: Makroskopische Anatomie des Rattengebisses
(nach BÜTTNER und ROZEIK (59)).

3) Die Rachitis der weißen Ratte.

Bei jungen Ratten läßt sich auf experimentellem Wege durch Verabreichung einer Mangeldiät ein Krankheitsbild erzeugen, das dem der menschlichen Rachitis sehr ähnlich ist. Nach NICOLAYSEN und EEG-LARSEN (62) ist im histologischen Bild ein Unterschied zwischen den rachitischen Veränderungen bei Kindern und jungen Tieren nicht zu differenzieren. In der Literatur werden zahlreiche Kostformen angegeben, mit denen man im Tierexperiment Rachitis erzeugen kann. Am bekanntesten sind die rachitogenen Diätformen nach McCOLLUM und Mitarbeiter (63) und nach STEENBOCK und BLACK (64). Diese Diätformen bestehen hauptsächlich aus Zerealien und enthalten viel Calcium neben relativ wenig Phosphat; oder aber man verfüttert eine Diät, die einen normalen Calciumgehalt hat, wobei dann die Zufuhr an Phosphat stark gedrosselt werden muß. Außerdem ist für die Entwicklung der experimentellen Rattenrachitis die Vermeidung der Einwirkung von Sonnenlicht oder diffuser Einstrahlung von UV-haltigem Licht von Bedeutung.

BETHKE und Mitarbeiter (65) sehen als optimal für die Mineralisation des wachsenden Knochens der Ratte eine Diät mit einem Ca:P-Verhältnis von 2,00 bis 1,00 an. Bei höherem Ca:P-Quotient und Fehlen von Vitamin D kommt es zu vermindertem Wachstum, Abnahme des Aschegehaltes der Knochen und Abnahme des prozentualen Gehaltes von anorganischem Phosphor im Blutserum, also zu den typischen Symptomen einer Rachitis, wobei der Schweregrad der genannten Veränderungen mit steigendem Ca:P-Quotient zunimmt.

Bei der P-armen Diät von DAY und McCOLLUM (66) mit einem P-Gehalt von 0,017 % wachsen die jungen Ratten noch 5 bis 6 Wochen weiter und sterben 2 bis 3 Wochen später. Neben dem gestörten Wachstum macht sich eine fortschreitende Unfähigkeit im Gebrauch der Extremitäten bemerkbar. Es kommt zu erheblicher Demineralisierung des Skeletts bei starker Ca-Ausscheidung im Harn und großem P-Verlust. Die Verluste an Ca sind erheblicher als die an P.

Andere Autoren berichten über die rachitogene Wirkung von Diätformen mit niedrigen Werten der Ca:P-Quotienten (67).

Während BETHKE und Mitarb. (65) dem Ca:P-Verhältnis eine entscheidende Bedeutung für Wachstum und Mineralisation bei Ratten beimessen, schreiben SHOHL und Mitarb. (68) eine rachitogene Wirkung auch solchen Diätformen zu, die bei normaler Ca:P-Relation arm an Ca und P sind. Danach ist nicht nur der Ca:P-Quotient in der Kostform von Bedeutung, sondern auch die absoluten Mengen der Zufuhr dieser Elemente.

C. Experimenteller Teil

I. Versuchsplanung

- A. Themenstellung: "Über die endogene Demineralisation des Dentins der durchgebrochenen Zähne" (Tierexperimentelle Studie).
- B. Zielsetzung: Die vorliegende tierexperimentelle Studie beschäftigt sich mit der Frage, ob bei Störungen des Calcium- und Phosphorstoffwechsels, die zu einem Mangelzustand an diesen Mineralien führen, der Organismus zur Deckung seines Bedarfes an diesen Elementen neben seinen Calcium- und Phosphorreserven im Skelettsystem auch den Mineralbestand der harten Zahnschubstanz von bereits in die Mundhöhle durchgebrochenen, also fertig entwickelten Zähnen heranzieht. Calcium und Phosphor machen bekanntlich 40 - 50 % des Zahnes aus.
- C. Versuchsbedingungen: Bei der Festlegung der Versuchsbedingungen sind folgende Punkte zu berücksichtigen.
- 1) Die Versuchstiere müssen in einen Mangelzustand an Calcium und Phosphor überführt werden.
 - 2) Die Kostform muß so beschaffen sein, daß der Bedarf an Calcium und Phosphor auf alimentärem Wege nicht gedeckt werden kann. Der Organismus soll nun auf seine Calcium- und Phosphorreserven zurückgreifen.
 - 3) Zum Zeitpunkt des Versuchsbeginns müssen die für die Untersuchungen vorgesehenen Zähne in die Mundhöhle durchgebrochen sein.

Diese Bedingungen werden von der auf alimentärem Wege an jungen Ratten erzeugten Rachitis erfüllt, wenn sich die Tiere bei Versuchsbeginn in einem Entwicklungsstadium befinden, bei dem einerseits die zu untersuchenden Zähne bereits fertig ausgebildet und durchgebrochen sind, andererseits aber der Knochen sich noch im Wachstum befindet.

2. Durchführung des Versuches:

1) Tiermaterial: Zur Durchführung des Versuches kommen junge Albinoratten zur Verwendung, die aus Würfen von normal ernährten Muttertieren stammen. Nach der Entwöhnung, in einem Alter von 23 Tagen, werden die jungen Ratten in den Versuch genommen.

2) Gruppeneinteilung: Die Geschwistertiere werden auf zwei Gruppen eingeteilt, von denen die Gruppe I als Versuchsgruppe, die Gruppe II als Kontrollgruppe dient.

Gruppe I: Bei den Tieren der Gruppe I soll auf alimentärem Wege eine Rachitis erzeugt werden. Als rachitogenes Futter dient die McCollum-Kost (3143) mit einem Ca:P-Verhältnis von 4:1 (s. Tabelle 5). Als Trinkwasser wird Aqua dest. gegeben.

Gruppe II: Die Tiere der Gruppe II unterliegen normalen Entwicklungsbedingungen. Sie erhalten Normalkost (s. Tabelle 4) und Leitungswasser.

3) Zwischenuntersuchungen und Versuchsdauer:

- a) Die Tiere beider Gruppen werden bei Versuchsbeginn und bei Versuchsende gewogen.
- b) Nach 16 Tagen Versuchsdauer wird ein Teil der Tiere beider Gruppen zur Feststellung der Rachitis geröntgt.
- c) Nach der röntgenologischen Feststellung der Rachitis werden die Tiere beider Gruppen durchschnittlich weitere 30 Tage unter den oben genannten Versuchsbedingungen gehalten und dann getötet. Hierdurch soll der Mangelzustand verschärft werden, d.h. der Organismus soll noch mehr seine Calcium- und Phosphorreserven in Anspruch nehmen.
- d) Als Material für die vorgesehenen Laboratoriumsuntersuchungen werden bei allen Tieren die Kiefer und bei einem Teil der Tiere die Femora herauspräpariert.

E. Laboratoriumsuntersuchungen:

1) Histologische Untersuchungen:

Erfolgen an je 10 Tieren der Gruppen I und II (je 5 Männchen und 5 Weibchen). Als Untersuchungsmaterial werden je eine Kieferhälfte (Oberkiefer und Unterkiefer) mit erhaltenem Parodontium, sowie je ein Femur nach dem Herauspräparieren in 10 %iges Formalin gelegt. Herstellung der histologischen Präparate nach üblichen Methoden (Gefrierschnittverfahren, Hämatoxylin-Eosinfärbung).

2) Härtemessungen:

An den ersten und zweiten Molaren einer Unterkieferhälfte werden bei allen Tieren Härtemessungen im Dentin vorgenommen. Aus den Härtemessungen können Rückschlüsse gezogen werden, ob dem Dentin Mineralien (Calcium und Phosphor) entzogen wurden. Auf Härtemessungen des Schmelzes wurde verzichtet, da dieser als avital gilt, d.h. keinen Stoffwechsel hat.

3) Gravimetrische Bestimmungen:

Durch gravimetrische Bestimmung wird der prozentuale Aschegehalt der Femora, bezogen auf das Trockengewicht, ermittelt. Diese Untersuchung dient neben der histologischen Untersuchung zur Sicherung des zwischenzeitlich erhobenen Rachitisbefundes.

4) Chemische Analysen:

Mit Hilfe chemischer Mikromethoden werden bestimmt:

- a) Der Calcium- und Phosphorgehalt der Asche der Femora in %.
- b) Der Calcium- und Phosphorgehalt der Asche der ersten Molaren in %.

Zur Verwendung gelangen die ersten Molaren der nicht für die histologische Untersuchung und Härtemessung verwendeten Kiefer. Es werden von jedem einzelnen Tier die ersten Molaren von Ober- und Unterkiefer zusammengefaßt und nach dem Veraschungsprozeß im

Achatmörser zu einem homogenen Pulver zerrieben. Der prozentuale Gehalt an Calcium und Phosphor wird bestimmt (komplexometrische Titration, Kolorimetrie).

Durch diese chemischen Untersuchungen soll festgestellt werden, ob den Zahnhartsubstanzen Calcium und Phosphor entzogen wurde, d.h. sie dienen zur Sicherung der Ergebnisse der Härtemessungen.

II. Versuchsverlauf

1) Zucht und Haltung der Ratten

Die Zucht der für den Versuch benötigten Jungtiere erfolgte in Holzställen, die zuvor frisch ausgekalkt worden waren. Der Boden der Ställe wurde mit Hobelspänen ausgelegt.

Als Zuchttiere standen erwachsene Albinoratten aus dem Tierbestand der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten zur Verfügung. Die Tiere wurden dort ebenfalls in Holzställen nach Geschlecht getrennt gehalten und erhielten ein Mischfutter aus Gerste und Fischmehl.

Für den durchzuführenden Versuch wurden 30 weibliche und 10 männliche Tiere nach Geschlecht getrennt in die frisch hergerichteten Ställe eingesetzt. Die Ställe wurden entsprechend ihrer Größe mit je vier bzw. zwei Tieren belegt. Als Futter wurde eine Mischkost verabreicht, deren Zusammensetzung in Tabelle 4 (S. 44) angegeben ist. Wasser wurde ad libitum gegeben. Fütterung und Wassergabe erfolgte einmal im Tag, wobei pro Tier etwa 20 g der angegebenen Kost verabreicht wurde. Die Ställe wurden zweimal wöchentlich gereinigt und mit frischen Hobelspänen beschickt. Nach Ablauf von sieben Tagen hatten sich die Tiere an die neue Umgebung und die Kostform gewöhnt, so daß die Männchen und Weibchen zur Zucht zusammengesetzt werden konnten. Zu je vier bzw. zwei Weib-

chen wurde je ein Männchen zugesetzt. Die Tiere erhielten weiterhin die in Tabelle 4 angegebene Normalkost. Trächtig gewordene Weibchen wurden aus den Massenzuständen herausgenommen und einzeln gesetzt. Die Tiere warfen gut, im Durchschnitt etwa 6 Junge. Um ein gleichmäßiges Wachstum der Jungtiere zu gewährleisten, wurde als Höchstgrenze der bei dem Muttertier zu belassenden Jungtiere eine Anzahl von 8 Tieren festgesetzt. Einige darüber liegende Würfe wurden entsprechend reduziert.

Die Jungtiere gediehen gut und wurden für eine Laktationszeit von 23 Tagen bei der Mutter belassen. Fütterung und Wartung erfolgte in der bereits angegebenen Weise.

Nach Ablauf der genannten 23 Tage wurden die Jungtiere von den Muttertieren abgesetzt und standen nunmehr zur Aufnahme in den eigentlichen Versuch bereit.

Insgesamt standen 110 Jungtiere zur Verfügung. Aus diesen Tieren wurden zwei Gruppen, I (54 Tiere) und II (56 Tiere), gebildet und die Geschwistertiere gleichmäßig auf diese beiden Gruppen verteilt, um die biologische Streuung auszugleichen. Da mehr weibliche als männliche Tiere vorhanden waren, entfielen zwar auf Gruppe I etwa gleichviel Weibchen bzw. Männchen wie auf Gruppe II, innerhalb der einzelnen Gruppen konnte jedoch die Anzahl der weiblichen und männlichen Tiere nicht gleich sein.

Für die gesamte Versuchsdauer wurden die Tiere der beiden Gruppen I und II in rechteckigen Drahtkäfigen gehalten, die schubladenartig in ein entsprechendes Metallgestell eingeschoben werden konnten. Während die Rückwand und die beiden Seitenwände der Käfige aus Metallblech gefertigt waren, bestanden die Vorderwand und der Boden aus Drahtgeflecht. Dadurch war eine Koprophagie der Tiere weitgehend ausgeschlossen. Um mögliche Fremdeinflüsse durch Futterspuren früherer Versuche auszuschließen, wurden die Käfige vor Beginn des Versuches einer gründlichen Reinigung unterzogen und

außerdem frisch lackiert. Die Vorderwand der Käfige wurde bei Gruppe I mit lichtundurchlässigem Papier versehen, um die Tiere vor dem direkten Einfall von Tageslicht bzw. Sonnenlicht zu schützen.

Die Tiere der Gruppe II erhielten weiterhin das in Tabelle 4 angegebene Futter und Leitungswasser ad libitum. Gruppe I erhielt die rachitogene McCollum-Kost (3143), wie sie von GRAB (69) modifiziert wurde. In der McCollum-Kost sind alle lebenswichtigen Aminosäuren enthalten. Der Phosphorsäuregehalt liegt unter dem Optimum der für wachsende Ratten benötigten Menge. Dagegen liegt der Calciumgehalt bei ungefähr dem Doppelten des Optimums. Während der antixerophthalmische Faktor in genügender Masse vorhanden ist, fehlt der antirachitische Faktor gänzlich. Der Effekt der McCollum-Kost beruht also auf einem Calciumüberschuß bei Phosphatarmut und Fehlen von Vitamin D (70). Die Zusammensetzung dieser Kostform ist aus Tabelle 5 ersichtlich, wobei die von GRAB (69) angegebenen Gewichtsmengen in Prozent umgerechnet wurden.

Gerste	62,0 %
Mais	27,0 %
Garnelen	9,0 %
Sonnenblumenkerne	2,0 %

Tabelle 4: Zusammensetzung der Normalkost

Mais geschrotet	22,1 %
Weizen geschrotet	20,3 %
Kleber	9,2 %
Leim	9,2 %
Calciumcarbonat	1,8 %
Natriumchlorid	0,6 %
Aqua destillata	36,8 %

Tabelle 5: Zusammensetzung der McCollum-Kost (3143) nach GRAB (69)

Um eine gleichbleibende Futterqualität zu erreichen, wurden die für die gesamte Versuchsdauer benötigten Mengen der einzelnen Futterbestandteile auf einmal bezogen und vor Beginn des Versuches makroskopisch auf ihre Reinheit untersucht. Der von der Lieferfirma gereinigte und als Saatgut bezeichnete Weizen war von gleichmäßiger Korngröße und erwies sich bei einer Probesiebung als praktisch staubfrei. Der zur Verfügung stehende Mais war jedoch stark verunreinigt und enthielt Beimengungen von Gerste und anderen Fremdbestandteilen. Er wurde gesiebt, dann noch einmal manuell verlesen und zum Schluß gewaschen. Weizen und Mais wurden in einer von mir persönlich gereinigten Hammerschrotmühle zerkleinert. Als Kleber diente Trockenkleber der Firma Diamalt A.G., der sich bereits in früheren Versuchen (71) als brauchbar erwiesen hatte. Als Leim kam ein sogenannter Perlleim zur Verwendung, der nach den Angaben der Lieferfirma ein Knochenleim rein tierischer Herkunft war. Die Salze, Natriumchlorid und Calciumcarbonat, waren Reinsubstanzen der Firma Merck.

Die zur Zubereitung der McCollum-Kost verwendeten Gefäße wurden in Rei-Lösung gereinigt und mit Leitungswasser gut nachgespült, um alle Rei-Spuren zu entfernen (Rei ist polyphosphathaltig). Die letzte Spülung erfolgte mit destilliertem Wasser. Nachdem die Leimperlen in kaltem destilliertem Wasser gequollen und durch langsames Erhitzen zur Auflösung gebracht worden waren, wurden die gut durchgemengten übrigen Bestandteile hinzugefügt und gründlich in der Leimlösung verrührt. Die entstandene zähe Masse wurde in noch warmem Zustande in großen Fotoschalen in etwa 2 cm Schichtdicke ausgestrichen und nach dem Erkalten in Würfel von etwa 20 g zerteilt. Ein solcher Würfel entsprach ungefähr der täglich benötigten Futtermenge für ein Tier. Die Tiere nahmen das Futter gern und zeigten bereits nach acht Tagen die für die experimentelle Rattenrachitis typischen Symptome. Sie blieben gegenüber den Tieren der Kontrollgruppe deutlich im Wachstum zurück, das Fell bekam ein struppiges Aussehen, der Gang wurde unbeholfen, und die Tiere wurden auffallend träge.

2) Röntgenkontrolle

Nach einer Versuchsdauer von etwa 16 Tagen wurden die Tiere der Gruppe I und II geröntgt. Da die Rachitis mit einer mangelhaften Verkalkung der neugebildeten Knochengrundsubstanz einhergeht, eignet sich das Röntgenbild in besonderem Maße zu einer Beurteilung des genannten Krankheitsbildes und ist ein wertvolles Hilfsmittel zum Nachweis der experimentell erzeugten Rattenrachitis. Die Rachitis dokumentiert sich im Röntgenbild durch eine verstärkte Aufhellung des Epiphysen-Metaphysenbereiches der großen Röhrenknochen. Die Metaphysen sind becherförmig ausgezogen und beträchtlich erweitert. Ferner ist die Knorpel-Knochengrenze der Rippen gut nachzuweisen. Nach WILHELM (56) werden die Epiphysen mit großer Wachstumsenergie zuerst befallen, wobei die Veränderungen der enchondralen Verknöcherung in folgender Reihenfolge auftreten: mittlerer Rippenknorpel, untere Femurepiphyse, obere Humerusepiphyse, Tibia- und Fibulaepiphyse. Das Defektwerden der präparatorischen Verkalkungszone beginnt herdförmig. Die Röntgenkontrolle wurde im Toleranzstadium einer Evipan-Natrium-Narkose vorgenommen. Das Narkotikum, eine frisch zubereitete 10 %ige Evipan-Natriumlösung, wurde nach einer von ROZEIK (72) ausgearbeiteten Methode intramuskulär injiziert, wobei die Injektionsstelle an der dorsalen Seite des Oberschenkels gewählt wurde. Auf eine Durchuntersuchung aller im Versuch befindlichen Tiere wurde verzichtet, da die Röntgenkontrolle lediglich einen zwischenzeitlichen Beleg für die erzeugte Rachitis erbringen sollte, die im weiteren Versuchsverlauf noch durch andere Untersuchungen nachgewiesen wird. Von den 54 Tieren der Gruppe I (Rachitisgruppe) wurden 20 Tiere, von den 56 Tieren der Gruppe II (Kontrollgruppe) 8 Tiere geröntgt. Die Tiere wurden wahllos aus den beiden Gruppen herausgegriffen. Von jedem der untersuchten Tiere wurde eine Übersichtsaufnahme des ganzen Körpers bei einer Einstellung des Zentralstrahles auf die Körpermitte und einer Filmgröße von 13 x 18 cm ausgeführt. Außerdem wurde der Epiphysenbereich der Tibia auf einer Filmgröße von 4 x 5 cm aufgenommen, bei Einstellung des Zentralstrahles auf den genannten Bereich.

Für die Übersichtsaufnahmen wurde ein Siemens-Reiniger-Gerät (Pleos 3) verwendet. Der Abstand der Ratte vom Tubus betrug 100 cm, die Belichtungszeit war 0,05 sec. bei einer Spannung von 40 KV und einer Stromstärke von 12 mA. Diese Einstellung hatte sich, wie KNEBEL (73) angibt, bei dem verwendeten Röntgengerät und Filmmaterial als optimal erwiesen und wurde auch von HEYMANN (71) verwendet. Die Aufnahmen des Epiphysenbereiches der Tibia erfolgten mit einer Siemens-Röntgenkugel. Der Tubusabstand war 50 cm, die Belichtungszeit 0,2 sec.

Zur Durchführung der Aufnahmen wurden die Ratten auf Holzbrettchen entsprechender Größe so fixiert, daß die ventrale Seite der Strahlenquelle zugekehrt war. Zwischen Ratte und Brett befand sich die Filmkassette. Um die Extremitäten zu strecken, damit sie aus dem Schattenbereich des Rumpfes herausragten, wurden sie mit Wollfäden umschlungen und diese an seitlich an den Brettchen angebrachten Nägeln festgebunden. Mit dieser Art der Fixation läßt sich eine exakt reproduzierbare Stellung der Tibia zum Röntgenfilm nicht ermöglichen, da eine gewisse Torsion der Tibia um eine gedachte Längsachse nicht immer zu vermeiden ist. Diese Torsion wird nach BRUNE (74) nur dann ausgeschaltet, wenn das Patellargelenk durchgedrückt und das obere Sprunggelenk maximal gespannt ist, und die Regio dorsalis pedis entweder dem Röntgenfilm oder dem Röntgengerät zugekehrt ist, was wegen der fehlenden Elastizität der verwendeten Wollfäden auf Schwierigkeiten stößt. Es wurde aber darauf geachtet, daß die genannten Bedingungen wenigstens annähernd erfüllt waren. Wie bereits erwähnt, sollte die Röntgenkontrolle lediglich einen zwischenzeitlichen Beleg für die erzeugte Rachitis erbringen. Eine Auswertung der Röntgenbilder in quantitativer Hinsicht, etwa durch einen metrischen Vergleich der Epiphysenspaltbreite, war nicht vorgesehen. Eine exakt reproduzierbare Stellung der Tibia zum Röntgenfilm war daher nicht erforderlich.

Nach Durchführung der Röntgenkontrolle wurden die Tiere weiterhin wie bisher ernährt. Gruppe I erhielt die McCollum-Kost (3143), Gruppe II die oben angegebene Normalkost. Die Versuchstiere wurden sorgfältig beobachtet. Die bereits erwähnten Unterschiede im Allgemeinzustand der Tiere der Gruppe I gegenüber den Kontrolltieren nahmen an Deutlichkeit noch zu. Die Tiere wurden schließlich so träge, daß sie auf Reize kaum noch reagierten. Sie hatten Mühe, sich aufzurichten und verharrten fast nur noch in liegender Haltung. Das Wachstum schien völlig aufgehört zu haben. Bei vielen Tieren trat eine Paralyse der Hinterbeine auf. Nachdem mehrere Tiere der Gruppe I an offensichtlicher Entkräftung eingegangen waren, wurde der Versuch beendet und die Tiere nach durchschnittlich 49 Tagen der Haltung unter Versuchsbedingungen durch eine Überdosis Chloroform getötet. Die Versuchsdauer von 49 Tagen ist insofern als durchschnittlich anzusehen, als die Tiere wegen der geplanten Härtemessungen nicht auf einmal getötet werden konnten. Es wurden an einem Tage nur soviel Tiere getötet, daß auch die Härtemessungen noch am gleichen Tage durchgeführt werden konnten. Dies schien erforderlich, um eine Beeinflussung des Ergebnisses der Härtemessungen durch einen etwaigen Feuchtigkeitsverlust des Untersuchungsmaterials auszuschließen.

3) Härtemessungen

Zur Begriffsbestimmung der Härte kann gesagt werden, daß man einen Stoff härter nennt als einen anderen, wenn man diesen mit jenem ritzen kann. Allgemein gesagt, versteht man unter Härte den Widerstand, den ein Körper dem Eindringen eines anderen entgegensetzt, also gewissermaßen die Kraft, mit welcher die einzelnen Teilchen eines Körpers aneinanderhaften (75, 76).

Hinsichtlich der Meßmethodik unterscheidet man zwischen dynamischen und statischen Methoden. Während bei den dynamischen Methoden der eindringende Körper sich auf der zu prü-

fenden Oberfläche verschiebt, wird bei den statischen Methoden der Eindringkörper senkrecht gegen die zu prüfende Oberfläche bewegt. Eine der bekanntesten Methoden zur Messung der Härte ist das Brinell-Verfahren. BRINELL (77) benutzte eine Stahlkugel von bestimmtem Durchmesser, welche durch eine geeignete Maschine auf das zu untersuchende Material gedrückt wird. Bei gleichem Druck werden nun die verschiedenen Eindrücke verglichen, indem der Durchmesser des durch die Kugel hervorgerufenen Eindruckes mikroskopisch festgestellt wird.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Härtmessungen wurde die Mikrohärt nach VICKERS bestimmt. Das Verfahren beruht auf folgendem Prinzip (78). Mit Hilfe einer Diamantspitze von der Form einer vierseitigen, regelmäßigen Pyramide mit quadratischer Grundfläche, die mit ihrer Spitze senkrecht gegen die Oberfläche des zu prüfenden Objektes bewegt werden kann, wird auf dieser unter Anwendung eines bestimmten Druckes ein Eindruck erzeugt, dessen Größe von der Beschaffenheit des Prüfobjektes und von dem verwendeten Druck abhängig ist. Der erzeugte Eindruck hat, räumlich gesehen, die Form einer umgekehrten, vierseitigen, regelmäßigen Pyramide, deren quadratische Grundfläche bei ebener Oberfläche des zu prüfenden Objektes mit dieser zusammenfällt. Im mikroskopischen Bild bei Einstellung auf die Prüfkörperoberfläche sieht man also ein Quadrat, in dem die Seitenkanten der Pyramide als Diagonalen erscheinen. Man mißt nun die Länge dieser beiden Diagonalen, d.h. die Entfernung zweier gegenüberliegender Eckpunkte des oben genannten Quadrates in der Oberflächenebene des Prüfkörpers und bildet daraus den Mittelwert. Bezeichnet man den erhaltenen Mittelwert als d und den angewendeten Prüfdruck, bzw. die Prüfkraft, als p, dann ist die VICKERS-Härte durch folgende Formel bestimmt:

$$HV = \frac{1854 \times p}{d^2}$$

HV = Vickers-Härte in kg/mm²

p = Prüfkraft in g

d = Mittelwert der Länge der
Eindruckdiagonalen in μ

Als Prüfgerät wurde der Kleinhärteprüfer DURIMET der Firma LEITZ verwendet (Abb. 2). Der Aufbau des Gerätes sei im folgenden kurz beschrieben (78, 79).

1. Feinmeßokular
2. Klemmschraube des Feinmeßokulars
3. Einstellschraube für die Teilung des Feinmeßokulars
4. Einstellknopf zur Querverschiebung des Okulars
5. Einstellknopf zur Längsverschiebung des Okulars
6. Eingebaute Beleuchtung mit Niedervoltglühlampe
7. Index für Normalstellung des DURIMET
8. Triebknopf zur Höhenverstellung des DURIMET
9. Feineinstellung des DURIMET
10. Orientierungseinteilung mit Noniusablesung für die Höheneinstellung des DURIMET
11. Klemmhebel zur Arretierung des DURIMET-Oberteils
12. Rändelmutter zur Höhenverstellung des DURIMET-Oberteils
13. Säule
14. Rändelknopf mit biegsamer Welle zum Anheben des Eindringkörpers
15. Griffe zum Einschwenken von Objektiv und Prüfdiamant
16. Rastfeder für das Wechseln von Übersichts- und Einstellobjektiv sowie des Diamanten
17. Prüfungsgewicht
18. Auflageteller für das Prüfungsgewicht
19. Meßobjektiv
20. Prüfdiamant
21. Suchobjektiv
22. Drahtauslöser
23. Auflagefläche für den Meßtisch
24. Feinmeßspindeln
25. Meßtisch
26. Rändelschraube zum Einstellen der Absinkgeschwindigkeit des Diamanten
27. Deckel der Ölbremse mit Ölloch
28. Kolbenstange

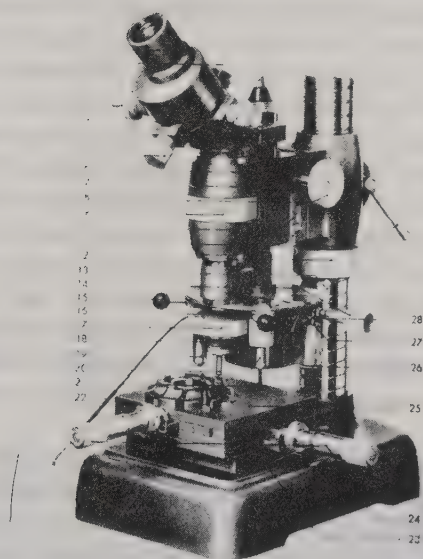


Abb. 2: Kleinhärteprüfer DURIMET
(nach LEITZ (78)).

Der Härteprüfer DURIMET besteht aus einem Stativ mit dem Objektstisch und dem Mikroskop mit der Härteprüfeinrichtung. Dem Objektstisch ist ein Meßtisch aufgelagert, der sich vermittels zweier Mikrometerschrauben von 25 mm Meßlänge in zwei Richtungen bewegen läßt. In die Säule ist zur Sicherung des Mikroskopes in seiner Lage bei Lösung der Klemme ein Steilgewinde eingeschnitten, das mit Hilfe der Rändelmutter (12) eine Höhenverstellung des Mikroskopes um 150 mm gestattet. Das Mikroskop wird mit dem Klemmhebel (11) an die Stativsäule geklemmt und ist durch den Triebknopf (8) um 40 mm in der Höhe, durch die Feineinstellung (9) um 14 mm

zu bewegen. Das Suchobjektiv (Vergrößerung 10-fach) und das Meßobjektiv (Vergrößerung 40-fach) können wahlweise mit Hilfe der Griffe (15) zur Abbildung eingeschwenkt werden und ergeben mit dem Feinmeßokular (1), das eine 10-fache Vergrößerung besitzt, eine 100- bzw. 400-fache Vergrößerung. Der Durchmesser des Sehfeldes beträgt bei 100-facher Vergrößerung 1,8 mm, bei 400-facher Vergrößerung 0,45 mm. Im Sehfeld des Feinmeßokulars ist eine Einstellskala und eine Meßskala angeordnet. Die Einstellskala besteht aus einem Indexstrich, der durch 9 auf diesem senkrecht stehende Meßstriche in Abstände von jeweils $25\ \mu$ unterteilt ist. Der $75\ \mu$ -Strich ist etwas weiter als die übrigen Striche über seinen in der Mitte des Sehfeldes gelegenen Schnittpunkt mit dem Indexstrich hinaus ausgezogen und bildet mit diesem ein Fadenzkreuz. Die Meßskala ist in Teilstriche von $0,5\ \mu$ unterteilt. Werte bis zu $0,1\ \mu$ können ohne weiteres geschätzt werden.

Zur Durchführung der Härtemessung wird zunächst das zu prüfende Objekt in der weiter unten beschriebenen Weise auf dem Meßtisch (25) fixiert. Durch Verschieben des Meßtisches mit Hilfe der Feinmeßspindeln (24) wird im Suchobjektiv (21) die Meßstelle eingestellt und dann im Meßobjektiv (19) nachjustiert. Anstelle der Objektive wird nun der Prüfdiamant (20) eingeschwenkt und durch Betätigung des Drahtauslösers (22) der Ablaufmechanismus des Diamanten in Gang gesetzt. Die von dem Diamanten auf die Prüfkörperoberfläche ausgeübte Druckkraft kann durch Auflegen unterschiedlicher Gewichte auf den Auflageteller (18) verändert werden. Die Ablaufgeschwindigkeit des Diamanten wird durch eine Ölbremse reguliert und kann an der Rändelschraube (26) eingestellt werden. Die Ablaufzeit des Diamanten soll nach den Angaben der Firma LEITZ (78) 15 sec. nicht unterschreiten. Nach Stillstand des Diamanten sind weitere 10 sec. zu warten. Dann wird der Eindringkörper mit Hilfe des Rändelknopfes (14) wieder in seine Ausgangsposition gebracht. Um die Eindrücke gezielt, d.h. an einer bestimmten Stelle des Präparates setzen zu können,

muß zunächst die Mitte des Fadenkreuzes im Feinmeßokular über der Spitze des VICKERS-Diamanten justiert werden. Das geschieht in einfacher Weise dadurch, daß man zunächst an beliebiger Stelle des Prüfkörpers einen Eindruck setzt und durch Verschieben des Feinmeßokulars mit Hilfe der beiden Einstellknöpfe (4) und (5) den Schnittpunkt der Diagonalen des gesetzten Eindruckes und den Mittelpunkt des Fadenkreuzes im Okular, das ist der Schnittpunkt des Indexstriches mit dem Teilungsstrich 75μ , zur Deckung bringt. Die folgenden Eindrücke kommen dann mit einer Treffsicherheit von $\pm 2 \mu$ auf die mit der Mitte des Fadenkreuzes anvisierte Stelle des Präparates zu liegen. Die Beleuchtung des Prüfobjektes erfolgt als Auflichtbeleuchtung. Als Lichtquelle dient eine Glühlampe von 8 V und 0,6 A, die bei Wechselstrom unter Vorschalten eines Transformators, bei Gleichstrom über einen Vorschaltwiderstand an das Lichtnetz angeschlossen wird.

Das Ausmessen der gesetzten Eindrücke erfolgt mit der Einstell- und der Meßskala, deren Anordnung im Sehfeld des Feinmeßokulars bereits weiter oben beschrieben wurde. Zunächst wird der Eindruck im Meßobjektiv scharf eingestellt, wobei man sich zweckmäßigerweise an der außerhalb des Eindruckes in der Fortsetzungsrichtung der Eindruckdiagonalen gelegenen unmittelbaren Umgebung der Eckpunkte des Eindruckquadrates orientiert, da ja als Diagonalenlänge die Entfernung zweier gegenüberliegender Eckpunkte des Eindruckquadrates in der Oberflächenebene des Prüfkörpers gemessen werden soll. Die innerhalb des Eindruckes als Diagonalen erscheinenden Seitenkanten der Eindruckpyramide lassen sich naturgemäß nicht in ihrer ganzen Länge scharf einstellen, da sie nicht in der Oberflächenebene des Prüfobjektes verlaufen. Nach erfolgter Scharfeinstellung des Eindruckes wird das Feinmeßokular nach Lösen der Klemmschraube (2) so gedreht, daß der Indexstrich parallel zu einer der beiden Eindruckdiagonalen verläuft. Zu Beginn der Messung wird die Meßskala an der Einstellschraube (3) auf Null gestellt. Durch Verschieben des Meßtisches

mit Hilfe der Feinmeßspindeln wird der eine Endpunkt der Eindruckdiagonalen auf die Mitte des Nullstriches der Einstellskala gestellt. Durch Rechtsdrehen der Einstellschraube (3) wird die Okularskala parallel zu der zu messenden Diagonalen verschoben, bis der andere Endpunkt der Diagonalen durch die Mitte des nächsten Teilungsstriches der Einstellskala verläuft. An der Einstellskala werden die einer Strecke von 25 μ bzw. einem Vielfachen davon entsprechenden Längenwerte abgelesen; die Meßskala zeigt den über diesen Wert hinausgehenden Längenwert in μ an. Die Summe dieser beiden Werte ist die Diagonalenlänge in μ . Zur Veranschaulichung des Meßvorganges dient die Abb. 3.

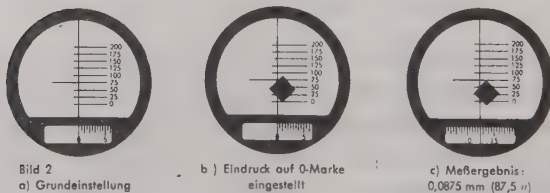


Abb. 3: Ausmessen eines VICKERS-Eindruckes
(nach LEITZ (78)).

Das linke Bild zeigt die Anordnung der Einstellskala und der Meßskala im Sehfeld des Feinmeßokulars, in der Mitte ist die Einstellung des einen Endpunktes der parallel zum Indexstrich ausgerichteten Diagonalen auf die Mitte des Nullstriches dargestellt, im rechten Bild sieht man die durch Rechtsdrehen der Meßschraube erhaltene Einstellung des anderen Diagonalenendpunktes auf die Mitte des nächsten Teilungsstriches der Einstellskala. Das Ausmessen der zweiten Diagonalen erfolgt nach Schwenken des Feinmeßokulars um 90 Grad in gleicher Weise.

Die für die Härtemessungen bestimmten Kieferhälften wurden in rechteckigen Palavitblöckchen von etwa 10 x 15 mm Größe eingebettet und anschließend auf einer Glasplatte mit Siliziumkarbid der Elektroschweißwerke Kempten (München) aufgeschliffen, wobei die Schliffebene durch den Boden der Fissuren der für die Härtemessung vorgesehenen ersten und zweiten Molaren gelegt wurde. Um eine glatte Oberfläche zu erzielen, wurde zur Ausführung der Schliffe Schleifpulver der Korngrößen 500, 800, 1000, 1200 in der genannten Reihenfolge verwendet. Um grobe Fehlermöglichkeiten auszuschließen, wurden die einzelnen Stadien mit einer Lupe kontrolliert. Zuletzt wurden die Schliffe auf einer Filzscheibe, die mit Tonerde Nr. 2 der Dujardin-Werke (Düsseldorf) getränkt war, auf Hochglanz poliert, ohne den eine exakte Darstellung der VICKERS-Eindrücke nicht möglich ist. Die Abb. 4 zeigt die in Palavit eingebetteten und aufgeschliffenen Molaren.



Abb. 4: In Palavit eingebettete und aufgeschliffene Rattenmolaren, vergrößert.

Inwieweit diese Maßnahmen des Schleifens und Polierens einen Einfluß auf die Härtewerte der erhaltenen Oberflächen ausüben, wurde im Rahmen dieser Arbeit nicht untersucht. Bei den von TOTAH (39) durchgeführten Untersuchungen über den Einfluß

des Polierens auf die Oberflächenhärte des Dentins erraten sich so geringfügige Unterschiede, daß der Einfluß des Polierens nach den Angaben von TOTAH (39) praktisch vernachlässigt werden kann.

Zur Fixierung der Präparate auf dem Meßtisch wurde der Objektschraubstock nach LEITZ (78) verwendet. Dieser Objektschraubstock kann um zwei Achsen geneigt werden und wird auf den eigentlichen Meßtisch gestellt. Durch Magnetwirkung ist er in seiner jeweiligen Lage gesichert. Die Oberfläche der eingespannten Präparate kann mit Hilfe einer Dosenlibelle senkrecht zur Druckrichtung des VICKERS-Diamanten gestellt werden, was für die Genauigkeit der Messungen unbedingt erforderlich ist.

Bei den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Härtemessungen wurde die Härte des Dentins der ersten und zweiten Molaren untersucht. Die Messungen wurden an den Molaren einer Unterkieferhälfte vorgenommen. An jedem der beiden Molaren wurde im Dentin der mesialen, distalen, buccalen und lingualen Seite des Zahnes je eine Messung ausgeführt. Die Meßstellen lagen etwa 25 - 30 μ von der Schmelzdentingrenze entfernt. Die Gesamtdicke des Dentins, d.h. die Entfernung Schmelzdentingrenze - Pulpenkammer differierte zwischen Werten von 60 - 125 μ . Die genannten Werte beziehen sich auf die Einstellung der Präparate im Suchobjektiv und sind nur als Vergleichswerte brauchbar, da die Okularskala in bezug auf das Suchobjektiv bei dem verwendeten Prüfgerät nicht geeicht war. Die Lage der vier Meßpunkte im Dentin der Molaren wird durch die schematische Darstellung in Abb. 5 veranschaulicht.

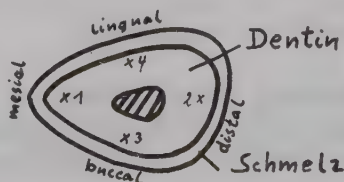


Abb. 5: Lage der vier Meßpunkte im Dentin der Molaren

Da der aus den Längenwerten der beiden Diagonalen eines VICKERS-Eindrucks gebildete Mittelwert als relatives Härtemaß betrachtet werden kann und zur Auswertung der durchgeführten Untersuchungen lediglich Vergleichswerte benötigt wurden, konnte auf eine Berechnung der VICKERS-Härte nach der weiter oben angegebenen Formel verzichtet werden. Von den erhaltenen einzelnen Meßwerten wurden für jeden der vier Dentinmeßpunkte der beiden Molaren die Mittelwerte von Gruppe I und Gruppe II gebildet. Außerdem wurde für jeden der beiden Molaren die durchschnittliche Dentinhärte berechnet, indem die Meßwerte der vier Dentinmeßpunkte bei jedem einzelnen Molaren zu einem gemeinsamen Mittelwert zusammengefaßt wurden. Aus diesen Werten wurden wiederum die Mittelwerte von Gruppe I und Gruppe II gebildet. Unter der Bezeichnung Mittelwert ist hier das arithmetische Mittel zu verstehen. Als Maß für die Streuung wurden für die gebildeten Mittelwerte die zugehörigen mittleren Fehler der Mittelwerte berechnet. Die Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet und finden sich auf Seite 73 ff.

4) Gravimetrische Bestimmungen

Da die Rachitis mit einer verminderten Einlagerung von Mineralsalzen in die neugebildete Knochengrundsubstanz und, bei längerem Bestehen, auch mit einer zunehmenden Entkalkung des vorher normalen Knochens einhergeht, läßt die Bestimmung des Aschegehaltes der Femora direkte Rückschlüsse in quantitativer Hinsicht auf die Schwere bzw. den Grad einer experimentell erzeugten Rachitis zu. Nach LANG (26) enthält der rachitische Knochen weniger Mineralsubstanz (30 % und darunter) als der normale Knochen, der einen Aschegehalt von rund 50 % aufweist.

Beim vorliegenden Versuch wurde die Bestimmung des Aschegehaltes der Femora aus zwei Gründen vorgenommen. Einmal sollte rein qualitativ das Weiterbestehen der früher schon rönt-

genologisch festgestellten Rachitis nachgewiesen werden, zum anderen sollte der Aschegehalt der Femora die Schwere der erzeugten Rachitis ausweisen, die allein auf Grund des erbrachten Röntgenbefundes nicht beurteilt werden konnte.

Die Bestimmung des Aschegehaltes erfolgte auf gravimetrischem Wege durch Ermittlung des Trocken- und des Aschegewichtes. Als Wägegefäße dienten Porzellantiegel von entsprechender Größe. Nachdem die leeren Tiegel zur Gewichtskonstanz geglüht worden waren, wurden in den Tiegeln die sorgfältig von den Resten des noch anhaftenden Weichgewebes befreiten Femora über Nacht im Trockenschrank konstant bei 110°C getrocknet. Anschließend wurden sie im Exsikkator bis auf Zimmertemperatur abgekühlt und auf der Semimikrowaage gewogen. Aus der Differenz zwischen dem ermittelten Gewicht und dem Leergewicht der Tiegel ergab sich das Trockengewicht der Femora. Sodann wurde 6 Stunden im Muffelofen bei 650°C verascht und in gleicher Weise das Aschegewicht der Femora bestimmt. Die Ergebnisse der gravimetrischen Bestimmungen finden sich auf Seite 74 ff.

5) Chemische Analysen

a) Untersuchungsmaterial

Mit Hilfe chemischer Mikromethoden wurde der Calcium- und Phosphorgehalt der Femora und der ersten Molaren in Prozent der Aschesubstanz bestimmt. Dieses Vorgehen hatte sich bereits bei früher durchgeführten chemischen Untersuchungen von HERRMANN und ROZEIK (42,80) bei Rattenzähnen und -femora gut bewährt. Entsprechend den Angaben der genannten Autoren wurde das Untersuchungsmaterial 6 Stunden bei einer konstanten Temperatur von 650°C im Muffelofen verascht und die veraschte Substanz dann im Achatmörser zu einem feinkörnigen homogenen Pulver zerrieben. Untersucht wurden die herauspräparierten Femora, sowie die ersten Molaren der nicht

für die Härtemessung und die histologische Untersuchung verwendeten Kiefer, wobei von jedem einzelnen Tier die ersten Molaren von Ober- und Unterkiefer zusammengefaßt wurden.

b) Methodik und Durchführung der Bestimmungen

1) Calcium:

Die quantitativen Calciumbestimmungen in der Asche der Femora und der ersten Molaren wurden nach einem von STEBER (81) angegebenen und von BEYERMANN im anorganisch-chemischen Institut in Mainz modifizierten Verfahren durchgeführt. Die bei diesem Verfahren angewendete Methode der komplexometrischen Titration wurde in ihren Grundlagen von SCHWARZENBACH entwickelt, der als erster erkannt hat, daß mit Hilfe bestimmter Chelatbildner Metalltitrationen möglich sind. SCHWARZENBACH (82) entwickelte die Grundlagen für die praktische Durchführung der Titrationen und arbeitete geeignete Methoden aus. In der Folgezeit wurden die komplexometrischen Titrationmethoden von anderen Forschern weiterentwickelt und sind heute aus den analytischen Laboratorien nicht mehr wegzudenken.

Das Verfahren der komplexometrischen Titration beruht im Prinzip darauf, daß Metallionen durch bestimmte Verbindungen als wasserlösliche, undissoziierte, innere Komplexe, sogenannte Chelate, gebunden werden. Die Chelatbildner, die sich für Metalltitrationen eignen, sind vornehmlich: die Nitrilotriessigsäure, die Äthylendiamintetraessigsäure und das Dinatriumsalz der Äthylendiamintetraessigsäure. Die letztgenannte Verbindung kommt am häufigsten zur Anwendung und wird von der Firma Merck zu Analysenzwecken unter dem Namen Titriplex III hergestellt. Titriplex III ist ein weißes, körniges Pulver, das in Wasser leicht löslich ist. Die wäßrige Lösung reagiert sauer. Titriplex III hat ein Molekulargewicht von 372,25 und kann durch die in Abb. 6 (S. 60) wiedergegebene Strukturformel beschrieben werden (83).

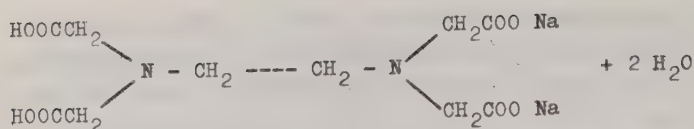


Abb. 6: Strukturformel des Titriplex III
(Dinatriumsalz der Aethylendiamin-
tetraessigsäure)

Die Metalltitrationen mit Titriplex III werden meist unter Verwendung sogenannter Metallindikatoren durchgeführt. Diese Metallindikatoren sind Substanzen, die mit dem zu titrierenden Metall ebenfalls komplexe Bindungen eingehen. Jedoch sind die Metallindikator-Komplexe anders gefärbt als der metallfreie Indikatorfarbstoff. Außerdem sind sie weniger stabil als die Titriplexchelate.

Grundsätzlich spielen sich bei der Titration folgende Vorgänge ab: Nach Zusatz des Metallindikators zu der zu titrierenden Lösung wird ein äquivalenter Teil der vorliegenden Metallionen komplex gebunden. Die Probelösung nimmt dadurch die Farbe des gebildeten Metallindikator-Komplexes an. Wenn nun - bei Einhaltung eines bestimmten pH-Wertes - mit Titriplex III titriert wird, so werden zunächst die freien Metallionen der Lösung als Titriplex III-Chelate gebunden, bis am Schluß auch dem weniger stabilen Metallindikator-Komplex das Metall entzogen wird, das dann ebenfalls in das stabile Titriplex III-Chelat übergeht. Dabei wird der Indikator in Freiheit gesetzt, und die ursprüngliche Indikatorfarbe tritt spontan wieder auf (83).

Wie FLASCHKA (84) schreibt, eignet sich die Chelatometrie in besonderem Maße gerade für Mikrobestimmungen. Komplexometrische Titrationen gelingen meist dann am besten, wenn die zu bestimmenden Metalle in hoher Verdünnung vorliegen. Arbeitet man mit Metallindikatoren, so liegt es im Wesen ihrer Funktion, daß im gleichen Moment, da der letzte Rest

des am Indikator hängenden Metalls diesem entzogen wird, auch schon die Eigenfarbe des Indikators erscheint, so daß Indikatorkorrekturen nicht notwendig sind. Während sonst bei der Übersetzung eines Makroverfahrens in den Mikromaßstab häufig Schwierigkeiten auftreten, die zu einer starken Erhöhung des prozentualen Fehlers führen oder aber eine grundlegende Änderung der Methodik erforderlich machen, ist dies in der Chelatometrie fast nie der Fall.

Wenn im Vorstehenden der Versuch unternommen wurde, einen kurzen Einblick in die komplexometrische Titrationsmethodik zu geben, so konnte nur soviel gesagt werden, wie erforderlich schien, um bei der praktischen Durchführung der Bestimmungen nach dem genannten Verfahren von STEBER eine gewisse Vorstellung von dem Wesen der stattfindenden chemischen Vorgänge zu haben. Eine ins einzelne gehende Erklärung dieser chemischen Umsetzungen, sowie eine weitere Erörterung der komplexometrischen Titrationsmethodik würde den Rahmen dieser Arbeit bei weitem übersteigen.

Zur Ausführung der Bestimmungen wurde von der feingemörserterten Aschesubstanz auf der Mikrowaage eine zwischen 2 und 3 mg liegende Einwaage vorgenommen und diese in ein Zentrifugenröhrchen von 15 ml gegeben. Nach Lösen der Substanz in 0,5 ml 2n-HCl wurde mit verdünnter, etwa 10 %iger Ammoniaklösung neutralisiert. Als Indikator diente Methylrot. Der auftretende Niederschlag von Phosphaten des Calciums und Magnesiums wurde durch Ansäuern mit 0,25 - 0,5 ml einer 25 %igen Essigsäure wieder aufgelöst. Mit Aqua destillata wurde auf 5 ml aufgefüllt. Nachdem das Calcium durch Hinzufügen von 2 ml einer gesättigten Natriumoxalatlösung in der Kälte (6 Stunden bei Kühlschranktemperatur) als Oxalat gefällt worden war, wurde 10 Minuten mit einer ECCO-Zentrifuge bei 3200 U/min abzentrifugiert und die überstehende Lösung durch ein Filterstäbchen vorsichtig abgesaugt. Der Niederschlag wurde zweimal mit je 1 ml gesättigter Natriumoxalatlösung gewaschen,

wobei jedesmal 5 Minuten abzentrifugiert und die Waschflüssigkeit anschließend vorsichtig abgesaugt wurde. Der gewaschene Niederschlag wurde in 0,5 ml 2n-HCl gelöst und unter sorgfältigem Nachspülen mit Aqua destillata in weithals-Erlenmeyer-Kolben umgefüllt. Nach Hinzufügen einer halben Indikator-Puffertablette "Merck" zur Härtebestimmung des Wassers und 5 ml einer 10 %igen Ammoniaklösung wurde mit einer 0,05 m ÄDTA- Lösung unter Verwendung einer Mikrobürette von 2 ml bis zum Farbumschlag von rot nach grün titriert. Die zur Titration benutzte 0,05 m ÄDTA-Lösung wurde durch Lösen von 18,6 g Titriplex III in einem Liter destillierten Wassers hergestellt und gegen eine Calciumlösung bekannten Gehaltes eingestellt. Zur Verfügung stand eine Stammlösung mit einem Calciumgehalt von 169 mg/30 ml. Diese Stammlösung wurde so verdünnt, daß in 1 ml der verdünnten Lösung 0,536 mg Calcium enthalten waren. Es wurden 5 Titrationen ausgeführt, zu denen jeweils 1 ml, 2 ml, 3 ml, 4 ml, 5 ml der verdünnten Calciumlösung vorgelegt wurden. Die Ergebnisse einer solchen Bestimmung seien nachfolgend zusammengestellt.

Vorlage			
ml Lösung 0,536 mg Ca/ml	mg Ca	titr. ml Titripl.	Verbrauch ml Titripl./ mg Ca
1	0,536	0,276	0,514
2	1,072	0,550	0,513
3	1,608	0,830	0,517
4	2,144	1,090	0,508
5	2,680	1,360	0,507
			2,559 : 5
			= <u>Mittelwert: 0,512 ± 0,002</u>

Die Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert betrugen nie mehr als 1 %. Die Ablesegenauigkeit der verwendeten 2 ml Mikrobürette betrug 0,005 ml, wobei Zwischenwerte geschätzt

werden konnten. Die Calciumbestimmung nach dem beschriebenen Verfahren ist für Mengen zwischen 0,5 und 5 mg also mit einer Genauigkeit von 1 % aus reinen Lösungen möglich. Von jedem Präparat wurde eine Doppelbestimmung angesetzt und titriert. Aus den Titrationsergebnissen wurde der prozentuale Calciumgehalt der Aschesubstanz, bezogen auf die Einwaage, berechnet. Die Doppelwerte wurden gemittelt. Die Ergebnisse der Calciumbestimmungen finden sich auf Seite 75 ff.

2) Phosphor

Zur quantitativen Phosphorbestimmung in der Asche der Femora und 1. Molaren wurde das Phosphor-Vanadin-Molybdänsäure-Verfahren angewendet, das von GEILMANN und JENNEMANN (85) und ausführlich von GERICKE und KURMIES (86) beschrieben wurde. Dieses außerordentlich einfach durchführbare und kaum Störungen unterworfenen Arbeitsverfahren beruht auf der Tatsache, daß beim gleichzeitigen Zusatz von Ammonmolybdat und Ammonvanadat zur salpetersauren Phosphatlösung ein kolorimetrierbarer gelb gefärbter Komplex entsteht, dem die Formel



zugeschrieben wird. Infolge der geringen Farbtiefe ist die Empfindlichkeit des Verfahrens im Vergleich zu dem Molybdänblauverfahren wesentlich geringer, dafür der Meßbereich aber entsprechend vergrößert, so daß Phosphatmengen zwischen 0,02 und 3,0 mg in 50 ml erfaßt werden können.

Die Messung der Farbintensität erfolgt auf lichtelektrischem Wege mit Hilfe eines Photometers. Über das Prinzip dieses Meßverfahrens kann - bei Berücksichtigung lediglich der grundlegenden Gesetzmäßigkeiten und unter Verzicht auf eine exakte Darlegung der verwendeten Begriffe im mathematischen Sinne - in Anlehnung an (87) folgendes gesagt werden:

Vermittels einer Photozelle wird die Abschwächung der Lichtintensität bestimmt, die durch die zu untersuchende Lösung an einem durchfallenden Lichtstrahl (monochromatisches Licht)

hervorgerufen wird. Das Verhältnis der Intensität I des austretenden Lichtstrahles zu der Intensität I_0 des eintretenden Lichtstrahles ist ein Maß für die erfolgte Abschwächung der Lichtintensität und wird als Durchlässigkeit D bezeichnet, die meistens in Prozenten angegeben wird. Den Logarithmus der reziproken Durchlässigkeit bezeichnet man als Extinktion der absorbierenden Lösung. Zwischen der Extinktion E , der Intensität I_0 des einfallenden Lichtstrahles, der Intensität I des ausfallenden Lichtstrahles, der Schichtdicke d der Lösung und der Konzentration c des färbenden Bestandteiles besteht nach dem Lambert-Beerschen-Gesetz die Beziehung:

$$E = \log \frac{I_0}{I} = k c d,$$

wobei k eine von der Wellenlänge stark abhängige Stoffkonstante ist. Mißt man die Konzentration c in Mol/Liter und die Schichtdicke d in cm, dann nennt man k den molaren dekadischen Extinktionskoeffizienten. Die Extinktion ist also proportional der Schichtdicke der gefärbten Lösung und der gesuchten Konzentration des färbenden Bestandteiles. Das Lambert-Beersche-Gesetz ist bei den im allgemeinen sehr stark verdünnten Analysenlösungen meistens erfüllt, jedoch nur für streng monochromatisches Licht.

Mit den gebräuchlichen Photometern kann vielfach sowohl die Durchlässigkeit als auch die Extinktion bestimmt, d.h. auf einer Skala direkt abgelesen werden. Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Phosphorbestimmungen wurde das Gitter-Spektral-Kolorimeter "Spectronic 20" der Firma Bausch und Lomb verwendet, dessen Anwendungsbereich bei 340 - 950 m μ liegt.

Die zur Durchführung der Bestimmungen benötigte Reagenslösung wird folgendermaßen hergestellt.

- 1) 165 ml Salpetersäure (Dichte 1,2) und 335 ml H_2O mischen.
- 2) 0,25 %ige VanadatLösung: 1,25 g Ammonvanadat werden in 250 ml heißem H_2O gelöst, nach dem Erkalten mit 10 ml konz. HNO_3 versetzt und zu 500 ml aufgefüllt.
- 3) 5 %ige AmmonmolybdatLösung: 25 g Ammonmolybdat in 400 ml H_2O lösen und nach dem Erkalten auf 500 ml auffüllen.

Das gebrauchsfertige Reagens wird durch Mischen der drei Einzellösungen in der angegebenen Reihenfolge im Verhältnis 1:1:1 erhalten. Das fertige Reagens ist in brauner Flasche längere Zeit haltbar. Als Chemikalien wurden die p.a. Substanzen der Firma "Merck" verwendet.

Zur Auswertung der Messungen ist die Aufstellung einer Eichkurve erforderlich. Hierzu wird eine Eichlösung mit genau bekanntem Phosphatgehalt benötigt. Diese wird folgendermaßen hergestellt: Eichlösung: 0,1917 g Kaliumhydrogenphosphat, KH_2PO_4 (p.a. nach Sörensen) und 10 ml n- H_2SO_4 werden in Wasser gelöst und zu 1000 g aufgefüllt. 1 g dieser Lösung enthält 0,1 mg P_2O_5 , so daß bei einer Wägegenauigkeit von 1 mg eine Dosierung auf $\pm 0,1\%$ P_2O_5 gewährleistet ist. 1 ml dieser Lösung enthält demzufolge 43,6 γ P.

Die Aufstellung der Eichkurve erfolgt in der nachfolgend beschriebenen Weise. Von der Eichlösung werden mit geeichten Vollpipetten 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml und außerdem von einer Verdünnung der Stammeichlösung mit Wasser im Verhältnis 1 : 1 3,0 ml in geeichte Meßkölbchen von 10 ml abpipettiert und mit einigen Tropfen NaOH ins Alkalische überführt. Nach Hinzufügen von je 3,0 ml Vanadat-Molybdat-Reagens und Auffüllen mit H_2O bis zur Marke wird sofort in Küvetten mit einer Schichtdicke von 11 mm bei einer Wellenlänge von 420 m μ ohne Filter gegen eine Blindlösung gemessen. Zur Herstellung der Blindlösung werden 3,0 ml Vanadat-Molybdat-Reagens in ein 10 ml Meßkölbchen gegeben und zur Marke mit H_2O aufgefüllt. Es ergaben sich folgende Extinktionswerte:

ml Eichlösung	γ P	Extinktion
0,5	21,8	0,108
1,0	43,6	0,201
3,0 (Verd. 1:1)	65,4	0,304
2,0	87,2	0,409

Überträgt man die gemessenen Extinktionswerte in Abhängigkeit von den zugehörigen Phosphorwerten in ein Koordinatensystem und verbindet die erhaltenen Punkte miteinander, so erhält man eine nahezu geradelinig verlaufende Eichkurve. Die Abb. 7 (S. 67) dient zur Veranschaulichung einer solchen Eichkurve, die hier im Maßstab verkleinert dargestellt wurde.

Zur Ausführung der eigentlichen Bestimmungen wurde von der feingemörserten Aschesubstanz eine zwischen 2 und 3 mg liegende Einwaage auf der Mikrowaage vorgenommen. Es wurde von jedem Präparat jeweils eine Doppelprobe eingewogen und die abgewogene Substanz in geeichte Meßkölbchen von 10 ml gegeben. Nach Lösen der Substanz in 0,5 ml 2n-HCl wurde mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Von den erhaltenen Lösungen wurde mit geeichten Vollpipetten je 1 ml abpipettiert und wiederum in geeichte Meßkölbchen von 10 ml gegeben. Mit einigen Tropfen NaOH wurde neutralisiert und dann je 3 ml Vanadat-Molybdat-Reagens mit geeichter Vollpipette zugefügt. Es wurde mit destilliertem Wasser bis zur Marke aufgefüllt und umgeschüttelt. Nach Umfüllen der Farblösungen in die Meßküvetten wurde sofort kolorimetriert. Die Messungen erfolgten in einer Schichtdicke von 11 mm bei einer Wellenlänge von 420 m μ ohne Filter gegen Blindwert in gleicher Weise wie bei den Messungen, die zur Aufstellung der Eichkurve durchgeführt worden waren. Für jede Meßserie

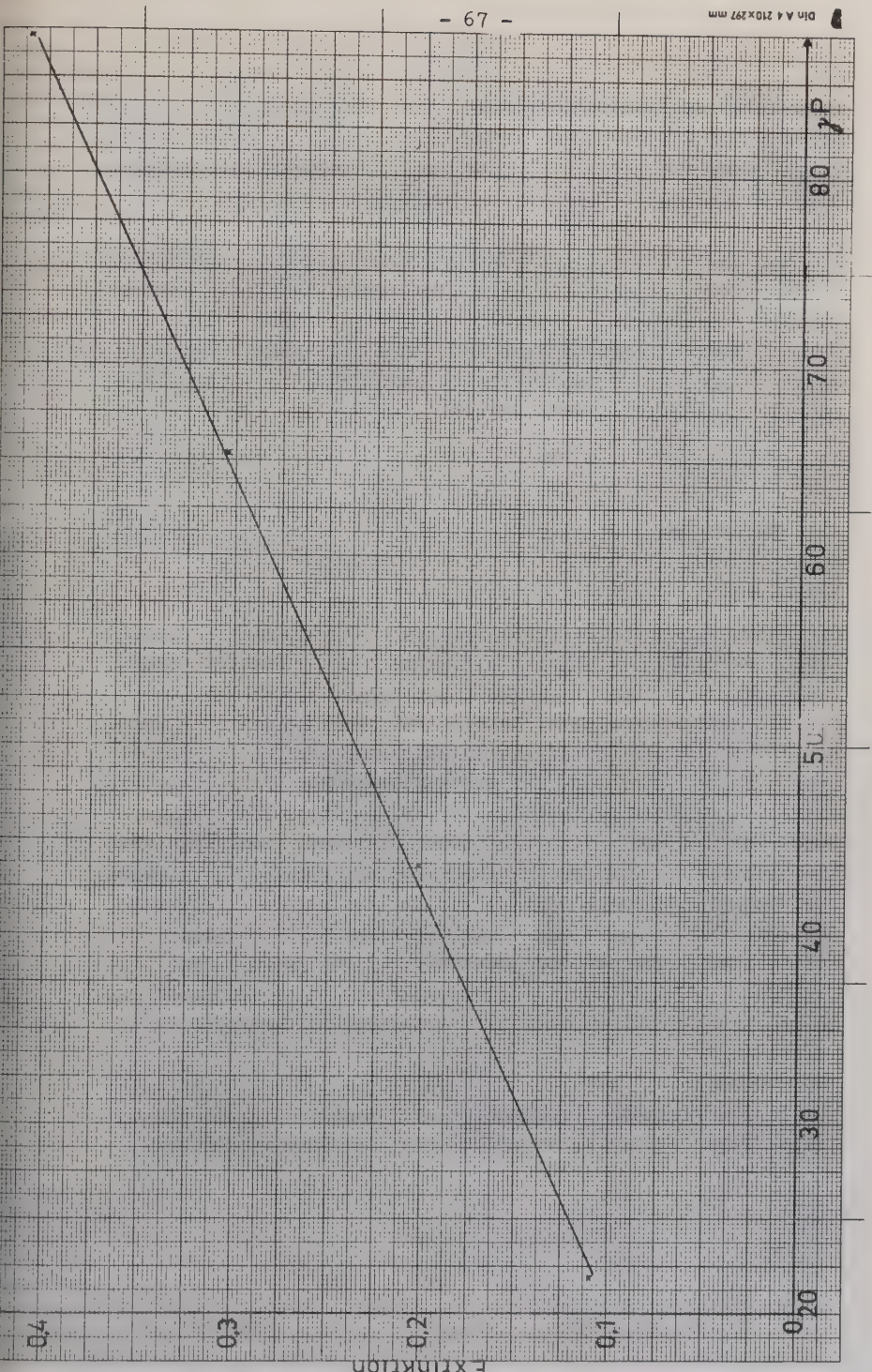


Abb. 7: P - Eichkurve

wurde eine der Standardlösungen, die zur Aufstellung der Eichkurve gedient hatten, neu hergestellt und mitkolorimetriert, um über eventuelle Schwankungen des Lichtnetzes, die gelegentlich die Messungen erschwerten, unterrichtet zu sein.

Die den gemessenen Extinktionswerten entsprechenden Phosphorwerte wurden aus der Eichkurve abgelesen. Aus diesen Werten wurde der prozentuale Phosphorgehalt der Aschesubstanz, bezogen auf die Einwaage, berechnet. Die Doppelwerte der einzelnen Präparate wurden gemittelt. Die Ergebnisse der Phosphorbestimmungen finden sich auf Seite 75 ff.

III. Ergebnisse

1) Wachstum

Die Anfangs- und Endgewichte der Tiere der Gruppen I und II sind - für jede der beiden Gruppen nach Geschlecht getrennt, sowie für alle Tiere einer Gruppe zusammen - in Tabelle 6 (S. 69) zusammengestellt. Es sind die jeweiligen Mittelwerte der Gruppe I bzw. II und die zugehörige Streuung in g angegeben. Unter Mittelwert ist das arithmetische Mittel zu verstehen, also jeweils die Summe aller Einzelwerte, dividiert durch deren Anzahl. Die als Streuung bezeichneten Werte sind die jeweiligen mittleren Fehler der betreffenden Mittelwerte. Diese mittleren Fehler wurden aus den jeweiligen Einzelwerten, deren Mittelwert und Anzahl bestimmt als die Quadratwurzel aus dem Quotienten aus der Summe aller Quadrate der Differenzen der Einzelwerte vom Mittelwert, dividiert durch das Produkt von Anzahl mit der um 1 verminderten Anzahl.

Aus der Tabelle 6 geht hervor, daß zu Beginn des Versuches bei Tieren gleichen Geschlechtes die Gewichte der Tiere von Gruppe I von denen der Gruppe II nicht verschieden waren.

Gruppe	Gewicht im Alter von 23 Tagen		Gewicht bei Tötung		
	♂	♀	♂ + ♀	♂	♀
I	36,2 ±0,87	34,4 ±0,55	35,1 ±0,49	56,6 ±2,13	49,5 ±1,46
					51,5 ±1,3
II	34,4 ±0,66	33,6 ±0,56	34,0 ±0,44	227,9 ±5,11	169,2 ±2,97
					194,4 ±4,78

Tabelle 6: Anfangs- und Endgewichte der Tiere der Gruppen I und II
Mittelwerte in g

Ferner bestanden bei Versuchsbeginn weder in Gruppe I noch in Gruppe II Unterschiede im Gewicht zwischen männlichen und weiblichen Tieren. Bei Versuchsende waren die Gewichte der Tiere der Gruppe II bedeutend höher als die der Tiere der Gruppe I. In Gruppe II war bei Versuchsende das Gewicht der männlichen Tiere deutlich höher als das Gewicht der weiblichen Tiere, in Gruppe I zeigten sich keine Unterschiede im Gewicht zwischen männlichen und weiblichen Tieren.

2) Makroskopischer Befund an Femora und Kieferknochen

Der Größenvergleich der freipräparierten Femora zeigte ein deutliches Zurückbleiben im Längenwachstum bei den Femora der rachitogen ernährten Tiere der Gruppe I. Die in der Konsistenz weichen und flexiblen Femora der Tiere der Gruppe I waren an den Gelenkenden kolbig aufgetrieben und zeigten ein hyalines Aussehen, wogegen die Femora der Tiere der Kontrollgruppe II den Eindruck regelrechter Verkalkung machten.

Bei den freipräparierten Kieferknochen der Tiere der Gruppe I war besonders auffällig die außerordentliche Weichheit der Kortikalis, die sich mit dem Messer leicht ritzen ließ. Die Kieferhälften der Tiere von Gruppe I waren im ganzen schwächer ausgebildet als die der Tiere von Gruppe II und wiesen eine gewisse Flexibilität auf. Die Ausbildung der Kieferknochen der Tiere der Kontrollgruppe II war regelrecht.

3) Röntgenbefund

Das Skelettsystem der rachitogen ernährten Tiere der Gruppe I zeigt im Röntgenbild schwere Störungen der Verkalkung. Die Epiphysenfugen sind verbreitert und nicht verkalkt. Ferner ist die Knochenknorpel-Grenze der Rippen gut erkennbar (Abb. 11, S. 72). Auf den Kleinaufnahmen des Tibia-Epiphysenbereiches ist die Verbreiterung der Epiphysenfuge besonders deutlich zu erkennen (Abb. 8, S. 71). Für die untersuchten Tiere der Gruppe I kann der Nachweis einer schweren Rachitis röntgenologisch als erbracht angesehen werden.

Im Gegensatz dazu stehen die Befunde bei den mit Normalkost ernährten Tieren der Kontrollgruppe II. Die Epiphysenfugen sind bis auf einen kleinen physiologischen Spalt gut verkalkt. Es bietet sich röntgenologisch kein Anhalt für das Bestehen pathologischer Veränderungen am Skelettsystem, dessen Verkalkung als regelrecht gelten kann (Abb. 9, 10).

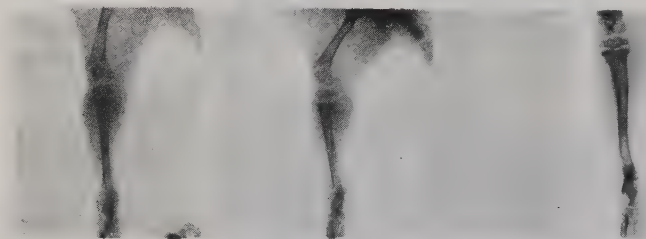


Abb. 8: Röntgenpositive des Tibia-Epiphysenbereiches zweier Ratten der Gruppe I

Abb. 9: Röntgenpositiv des Tibia-Epiphysenbereiches einer Ratte der Gruppe II

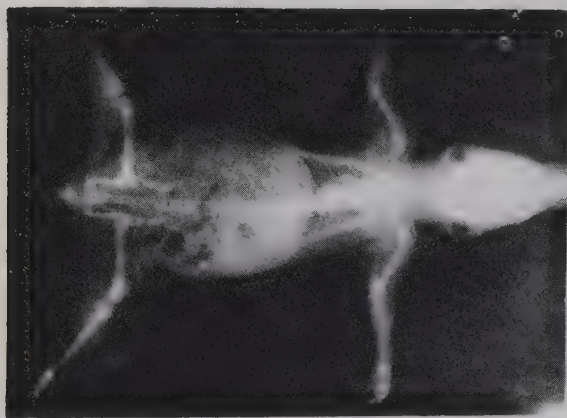


Abb. 10: Röntgennegativ einer Ratte der Gruppe II

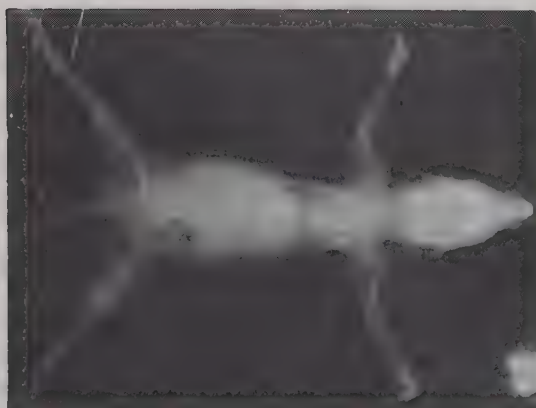
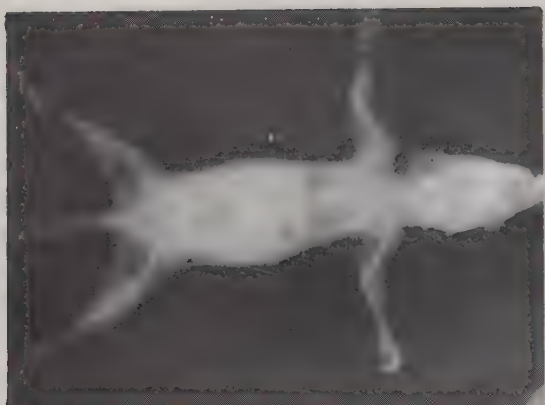


Abb. 11: Röntgennegative zweier Ratten der Gruppe I

4) Ergebnisse der Härtemessungen

Die Ergebnisse der Härtemessungen finden sich in den Tabellen 7 bis 9

Dentin- meßpunkte	1	2	3	4
Gruppe I	$54,8 \pm 0,2$	$54,2 \pm 0,2$	$55,0 \pm 0,2$	$55,0 \pm 0,2$
Gruppe II	$54,4 \pm 0,1$	$53,7 \pm 0,1$	$54,9 \pm 0,2$	$54,5 \pm 0,1$

Tabelle 7: Ergebnisse der Härtemessungen des Dentins
der 1. Molaren: Dentinmeßpunkte 1 - 4
Mittelwerte in μ .

Dentin- meßpunkte	1	2	3	4
Gruppe I	$55,7 \pm 0,2$	$55,0 \pm 0,2$	$55,4 \pm 0,3$	$54,7 \pm 0,2$
Gruppe II	$54,9 \pm 0,2$	$54,2 \pm 0,1$	$54,6 \pm 0,1$	$54,2 \pm 0,2$

Tabelle 8: Ergebnisse der Härtemessungen des Dentins
der 2. Molaren: Dentinmeßpunkte 1 - 4
Mittelwerte in μ .

	Molar 1	Molar 2
Gruppe I	$54,7 \pm 0,2$	$55,3 \pm 0,2$
Gruppe II	$54,4 \pm 0,1$	$54,5 \pm 0,1$

Tabelle 9: Durchschnittliche Dentinhärte der Molaren
Mittelwerte in μ .

Die Meßpunkte, an denen die Härtemessungen durchgeführt wurden, zeigt die schematische Darstellung auf Seite 56. In den Tabellen 7) und 8) sind diese Meßpunkte mit den im Schema angegebenen Ziffern bezeichnet.

Tabelle 7) enthält die Mittelwerte der Meßergebnisse der einzelnen Dentinmeßpunkte von Gruppe I und Gruppe II für den ersten Molaren, Tabelle 8) die für den zweiten Molaren. Die in Tabelle 9) angegebene durchschnittliche Dentinhärte der Molaren ist der jeweilige Gruppenmittelwert der Dentinhärte der Molaren bei den Einzeltieren. Als Dentinhärte bei den Einzeltieren wird der Mittelwert der Meßergebnisse der vier Dentinmeßpunkte des ersten bzw. zweiten Molaren beim einzelnen Tier bezeichnet.

Zwischen den Meßergebnissen der einzelnen Dentinmeßpunkte von Gruppe I und den der korrespondierenden Meßpunkte von Gruppe II war - bis auf den Meßpunkt 2 beim zweiten Molaren - ein statistisch gesicherter Unterschied nicht vorhanden.

Hinsichtlich der Dentinhärte ist ein Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Molaren in Gruppe I im Sinne einer geringeren Härte des zweiten Molaren wahrscheinlich.

Keine Härteunterschiede bestehen zwischen dem ersten und zweiten Molaren in Gruppe II sowie dem ersten Molaren in Gruppe I und dem ersten Molaren in Gruppe II.

Zwischen dem zweiten Molaren in Gruppe I und dem zweiten Molaren in Gruppe II besteht ein statistisch gesicherter Unterschied im Sinne einer geringeren Härte des zweiten Molaren in Gruppe I.

5) Ergebnisse der gravimetrischen Bestimmungen

In Tabelle 10) (S. 75) sind die Ergebnisse der gravimetrischen Bestimmungen zusammengestellt.

	♂	♀	♂ + ♀
Gruppe I	24,1	24,3	24,2
Gruppe II	56,8	59,5	58,4

Tabelle 10: Aschegehalt der Femora in % des
Trockengewichtes

Der Aschegehalt der Femora ist bei Gruppe I mit 24,2 % auf mehr als die Hälfte gegenüber Gruppe II mit 58,4 % herabgesetzt.

Unterscheidet man die Tiere nach Geschlecht, so ist in Gruppe I zwischen weiblichen und männlichen Tieren ein zahlenmäßig nur sehr geringer Unterschied im Aschegehalt der Femora vorhanden, während in Gruppe II die Femora der weiblichen Tiere einen zahlenmäßig etwas höheren Aschegehalt aufweisen als die Femora der männlichen Tiere.

6) Ergebnisse der chemischen Analysen

Über die Ergebnisse der chemischen Analysen geben die Tabellen 11) und 12) Auskunft.

<u>Femora</u>	Calcium	Phosphor
Gruppe I	32,5 ± 0,2	16,9 ± 0,2
Gruppe II	35,8 ± 0,1	18,0 ± 0,1

Tabelle 11: Calcium- und Phosphorgehalt der Femora
in % der Aschesubstanz

<u>1. Molaren</u>	Calcium	Phosphor
Gruppe I	$35,6 \pm 0,1$	$18,7 \pm 0,1$
Gruppe II	$35,5 \pm 0,1$	$18,9 \pm 0,1$

Tabelle 12: Calcium- und Phosphorgehalt der
1. Molaren in % der Aschesubstanz

In Tabelle 11) sind die Ergebnisse der Calcium- und Phosphorbestimmungen bei den Femora, in Tabelle 12) die der ersten Molaren enthalten. Die Werte geben den prozentualen Calcium- und Phosphorgehalt der Aschesubstanz an und sind die jeweiligen Mittelwerte von den untersuchten Tieren der Gruppen I und II.

Es zeigt sich, daß bei den Femora der prozentuale Calcium- und Phosphorgehalt der Aschesubstanz in Gruppe I deutlich niedriger ist als in Gruppe II. Der Unterschied ist statistisch gesichert. Die Asche der ersten Molaren weist einen Unterschied im Calcium- und Phosphorgehalt zwischen Gruppe I und Gruppe II nicht auf.

7) Histologischer Befund

a) Femora

Schon makroskopisch zeigten die Femora der rachitischen Tiere (Gruppe I) ein reduziertes Wachstum. Sowohl die Längen- als auch die Dickenzunahme der Femora der Gruppe I betrug ca. 50 % der der Femora der Kontrolltiere (Gruppe II). Nur das untere Ende der Femora der Tiere der Gruppe I bildete eine Ausnahme, hier trat eine starke Verdickung ein, die oberhalb der Epicondylus tibiales bzw. fibulares ihren Ausgang nahm und die Condylus tibiales bzw. fibulares umfaßte.

Die histologischen Schnitte der Femora der Gruppe I bestätigten das verzögerte Wachstum bzw. die gestörte Mineralisation. Die Diaphysen der Femora dieser Tiere zeigten im Vergleich zu denen der Kontrolltiere ausnahmslos eine sehr schmale kompakte Knochenrinde, die auf eine Störung der perichondralen Ossifikation hindeutet. Während die Fugenknorpel der Epiphysen der Femora der Kontrolltiere in den vorliegenden Präparaten als eine schmale Zone erscheinen, der spongiöse Knochen innerhalb der Epiphysen gut ausgebildet ist und die Gelenkknorpel die Gelenkenden in normaler Stärke überziehen, unterscheidet sich das histologische Bild der Epiphysen der Femora der rachitischen Tiere. Hier ist ein sehr breiter Fugenknorpel vorhanden, Knorpelzellen werden noch reichlich als Zellsäulen oder Großzellen angetroffen. Innerhalb der Epiphyse und unterhalb der Fugenknorpel wird zaghaft gebildete Spongiosa, von vielem Knorpelgewebe umgeben, angetroffen. Diese Bilder deuten auf eine Störung der enchondralen Ossifikation hin.

Die histologische Untersuchung der Epiphysen der Femora der rachitischen Tiere liefert eine Erklärung für die oben angegebene Verdickung eines Teiles der Femora. Es kann angenommen werden, daß der Organismus hier der Fraktur der breiten Fugenknorpel und der anscheinend schlecht verkalkten Zonen durch Gewebsneubildung entgegenzuwirken suchte.



Abb. 12: Schnitt eines Femurs einer Ratte der Gruppe I. Reduziertes Wachstum und Verdickung der Gelenkenden. Maßstab: 1:4. Hämatoxylin-Eosinfärbung.

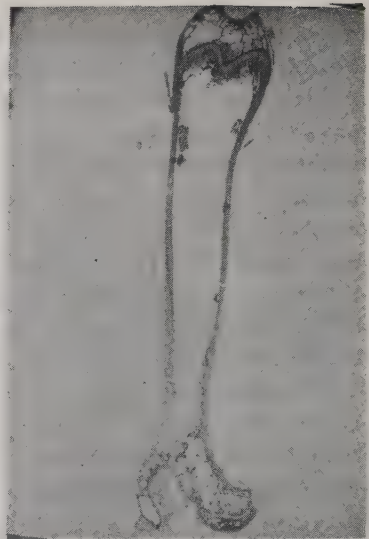


Abb. 13: Schnitt eines Femurs einer Kontrollratte. Normales Wachstum; der Unterschied zu Abb. 12 ist markant. Maßstab: 1:4. Hämatoxylin-Eosinfärbung.

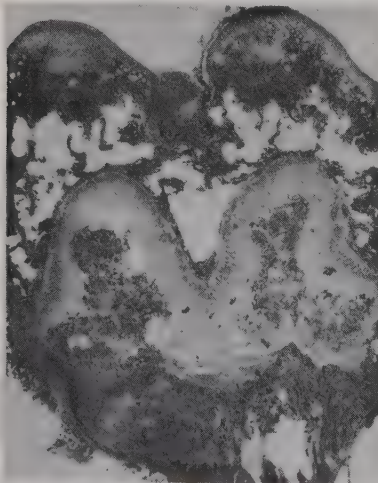


Abb. 14: Stärkere Vergrößerung von Abb. 12. Breiter Fugenknorpel der Epiphyse und gestörte Knochenentwicklung sind deutlich sichtbar. Maßstab: 1:4. Hämatoxylin-Eosinfärbung.

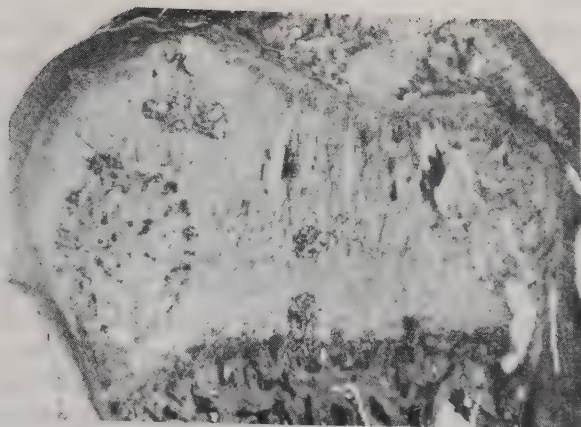


Abb. 15: Schnitt einer Femurepiphyse eines Tieres der Gruppe I. Der breite Fugenknorpel zeigt reichlich Knorpelzellen als Zellsäulen und Großzellen.

Maßstab : 1:10

Hämatoxylin-Eosinfärbung.

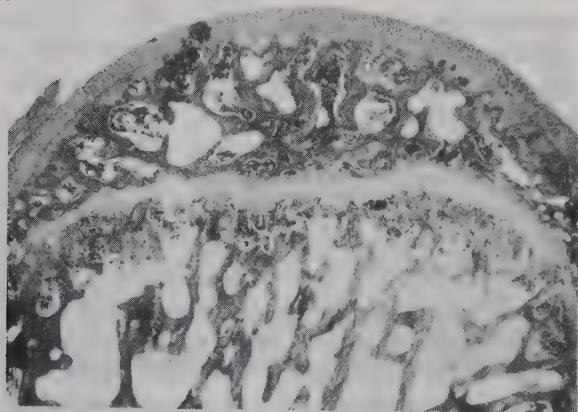


Abb. 16: Schnitt einer Femurepiphyse eines Kontrolltieres. Normale Knochenbildung. Der Vergleich von Abb. 15 und Abb. 16 weist auf die Schwere der Rachitis bei Gruppe I hin.

Maßstab : 1:10

Hämatoxylin-Eosinfärbung.

b) Zähne

Bei Versuchsbeginn waren die ersten und zweiten Molaren sämtlicher Tiere durchgebrochen, d.h. ihre Mineralisation war weitgehend abgeschlossen. Der dritte Molar aber bricht etwa am 38. Lebenstage durch, Mineralisationsstörungen durch die Rachitis müssen in diesem Zahn und in dem Teil des Nagezahnes, der während der Rachitis gebildet wird, feststellbar sein. Nicht nur das Dentin der dritten Molaren der rachitischen Ratten war schmaler im Vergleich zu den Kontrolltieren, sondern im letzten Wurzeldrittel dieser Zähne konnten kugelförmige Verkalkungsbezirke angetroffen werden, die die schlechte Mineralisation dieser Zahnhartsubstanz demonstrieren. In den vorliegenden Präparaten ist eine deutliche Verbreiterung der Prädentinzone sämtlicher Molaren der rachitischen Tiere im Vergleich zu den Molaren der Kontrollratten feststellbar. Abgesehen von der Schnittebene ist das Dentin der Molaren der Gruppe I im Vergleich zu dem Dentin der Kontrollen schmal, der Pulpa Cavum ist groß, d.h. die Dickenzunahme des Dentins der rachitischen Tiere war beeinträchtigt. Während bei den Molaren der Tiere der Gruppe II das Dentin vor dem schmalen Prädentin-saum geradlinig verläuft, ist dieser bei den Molaren der Tiere der Gruppe I zackig und sieht wie ausgefranst aus. Bei den Wurzeln der Molaren der rachitischen Tiere ist der Apex fertig ausgebildet und scharf umrissen, die Apikalregion bei den Wurzeln der Molaren der Gruppe I ist durch Dentinoid gekennzeichnet. Dieser Befund der Molaren, der sich von dem des in der Nähe des Keimzentrums gelegenen Teils des Nagezahnes nicht unterscheidet, deutet ebenso wie der Femorabefund auf Mineralisationsstörungen hin. In der Pulpa war kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen festzustellen. Vielleicht die Ameloblasten des Keimzentrums des Nagezahnes der Tiere der Gruppe I schienen im Vergleich zu denen des Nagezahnes der Tiere der Gruppe II etwas verkümmert. Der Schmelz konnte in den vorliegenden Präparaten nicht untersucht werden, da dieser durch die Entkalkung ausfällt.

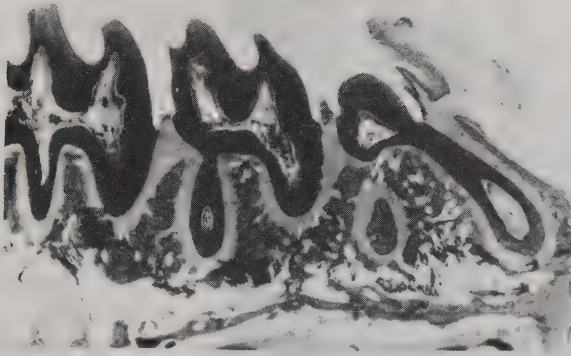


Abb. 17: Schnitt eines Unterkiefers einer Kontrollratte.
Normal gebildetes Dentin, schmale Prädentinzone,
Wurzelspitzen normal entwickelt.
Maßstab 1:4. Hämatoxylin-Eosinfärbung.

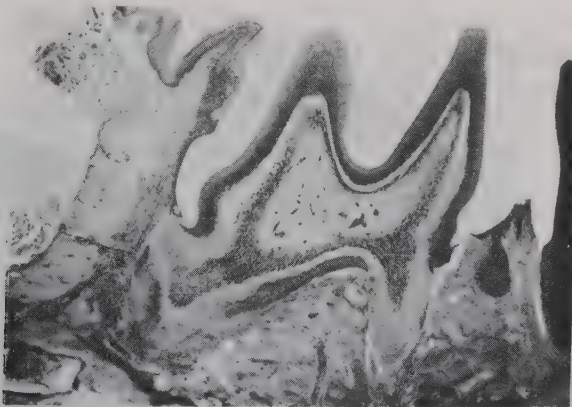


Abb. 18: Schnitt eines Unterkiefers einer rachitischen Ratte.
Mineralisationsstörungen im Dentin des dritten Molaren.
Die Dickenzunahme des Dentins ist beeinträchtigt,
breite Prädentinzone, apikale Region besteht aus Dentinoid
oder weist kugelförmige Verkalkungsbezirke auf.
Maßstab 1:10. Hämatoxylin-Eosinfärbung.

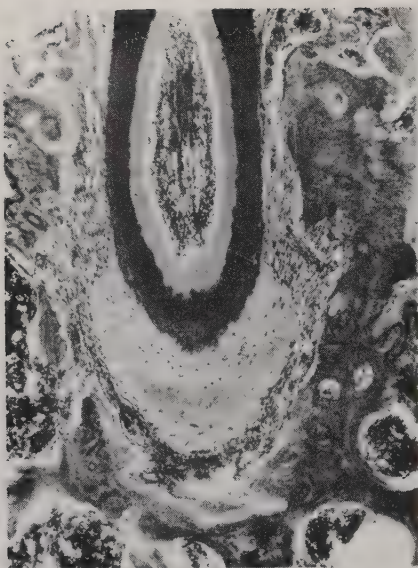


Abb. 19: Vergrößerung
einer Wurzelspitze eines
Molaren einer rachitischen
Ratte. Verkalkungsstörung.
Die Verdickung des Apex
weist auf Hyperzementose
hin. Maßstab 1:25.
Hämatoxylin-Eosinfärbung.

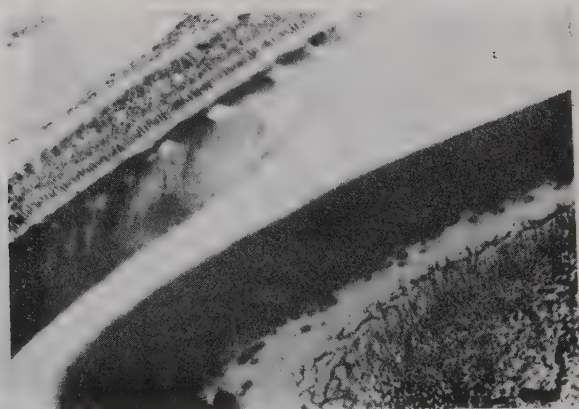


Abb. 20: Schnitt aus der Gegend des Keimzentrums des unteren
Nagezahnes einer rachitischen Ratte. Mineralisations-
störungen im Dentin. Kugelförmige Verkalkungsbezirke
sind sichtbar.

Maßstab 1:40

Hämatoxylin-Eosinfärbung.

D. Diskussion

Den durchgeführten tierexperimentellen Untersuchungen an Ratten lag die Fragestellung zugrunde, ob schwerwiegende Störungen des Mineralstoffwechsels sich auf die Zusammensetzung des Mineralanteiles der Zähne auswirken, wenn diese bei Einsetzen der Stoffwechselstörung bereits in die Mundhöhle durchgebrochen, also fertig ausgebildet und in ihrem Wachstum abgeschlossen sind. Im Dentin des Rattenmolaren beträgt der Anteil der anorganischen Substanz etwa 72 %, wovon 67 % auf Calciumphosphat entfallen. Der Schmelz besteht zu 96 - 98 % aus anorganischem Material, davon sind 90 % Calciumphosphat (61). Da also die Hauptmasse des Zahnes aus Calcium und Phosphor besteht, kann angenommen werden, daß, wenn eine Störung im Mineralstoffwechsel des Organismus sich quantitativ auf die anorganische Zusammensetzung der Zahnhartsubstanzen auswirkt, dies am besten an einer Störung des Calcium- und Phosphorstoffwechsels beobachtet werden kann.

Bei den Versuchstieren wurde durch Verfütterung einer Vitamin D-freien Mangeldiät eine floride Rachitis erzeugt. Bekanntlich betreffen die auffälligsten Veränderungen bei der Rachitis das Knochensystem. Die rachitischen Veränderungen des Knochens bestehen nach LANG (26) in einer unzureichenden Verkalkung des neu zu bildenden Knochens und, bei längerem Bestehen, auch in einer zunehmenden Entkalkung des vorher normalen Knochens. Wenn nun die ersten und zweiten Rattenmolaren, die bei Einsetzen der rachitischen Stoffwechselstörung durchgebrochen waren und nicht mehr im Wachstum standen, Stoffwechselvorgängen ähnlich wie der Knochen unterworfen sind, dann muß sicherlich die Rachitis zu einer Veränderung des Mineralanteiles dieser Molaren führen.

Der Größenvergleich der freipräparierten Femora zeigte ein deutliches Zurückbleiben im Längenwachstum bei den rachitogen ernährten Tieren der Gruppe I. In der Konsistenz weich

und flexibel, hatten die Femora der Tiere der Gruppe I ein hyalines Aussehen, während die Femora der Tiere der Kontrollgruppe II den Eindruck regelrechter Verkalkung machten. Die Konsistenz der Femora der Tiere der Gruppe I deutet auf die zunehmende Entkalkung des vorher normalen Knochens im Sinne von LANG hin. Auch histologisch war die Störung der Verknöcherung eindeutig zu belegen. Es zeigte sich bei den Tieren der Gruppe I eine eindruckliche Verbreiterung der Epiphysenfugen der Femora mit unregelmäßiger Begrenzung gegen die Diaphyse hin, wobei sich neben teilweise gebildeter Spongiosa unverkalktes Osteoid und eingesprengte Knorpelzellnester fanden.

Der Aschegehalt der Femora war bei Gruppe I mit 24,2 % auf mehr als die Hälfte gegenüber Gruppe II mit 58,4 % herabgesetzt. Bei allen Tieren in Gruppe I betrug der Aschegehalt der Femora gegenüber Gruppe II weniger als die Hälfte.

Die chemische Analyse der Femorasche ergab in Gruppe I niedrigere Calcium- und Phosphorwerte als in Gruppe II. Bei Gruppe I fanden sich in der Aschesubstanz im Mittel $32,5 \pm 0,2$ % Calcium und $16,9 \pm 0,2$ % Phosphor, bei Gruppe II betrugen die Werte $35,8 \pm 0,1$ % für Calcium und $18,0 \pm 0,1$ % für Phosphor. Die Femorasche der Tiere von Gruppe I enthielt also gegenüber Gruppe II 3,3 % weniger Calcium und 1,1 % weniger Phosphor. Beide Differenzen konnten statistisch gesichert werden.

Im Gegensatz zu den Befunden hochgradiger Mineralisationsstörung am Skelett stehen die Befunde am Zahnsystem.

Bei den Härtemessungen ergab sich in der Dentinhärte der bei Versuchsbeginn fertig ausgebildeten ersten Molaren kein Unterschied zwischen Gruppe I und Gruppe II. Dagegen war das Dentin der zweiten Molaren in Gruppe I weicher als in Gruppe II. Nach ROZEIK (88) kann dies darauf zurückgeführt werden, daß bei Versuchsbeginn die zweiten Molaren im Wachstum noch nicht ganz abgeschlossen waren.

Weisen schon die Ergebnisse der Härtemessungen darauf hin, daß die bei Versuchsbeginn fertig ausgebildete und mineralisierte Dentinsubstanz hinsichtlich der Zusammensetzung ihres Mineralanteiles von der rachitischen Stoffwechselstörung nicht beeinflußt wurde, so wird dies durch die chemischen Untersuchungen bestätigt.

Die Bestimmung des prozentualen Gehaltes der Zahnasche an Calcium und Phosphor ergab mit $35,6 \pm 0,1$ % Calcium und $18,7 \pm 0,1$ % Phosphor in Gruppe I, sowie $35,5 \pm 0,1$ % Calcium und $18,9 \pm 0,1$ % Phosphor in Gruppe II keine Unterschiede im prozentualen Calcium- und Phosphorgehalte der Aschesubstanz der ersten Molaren der rachitogen ernährten Tiere der Gruppe I gegenüber den Kontrolltieren der Gruppe II.

Die Wirkung der Rachitis auf den Knochen konnte durch die obigen mannigfaltigen Untersuchungen und deren Ergebnisse deutlich gezeigt werden. Durch die längere Zeit fortgesetzte rachitogene Ernährung wurde bei den Versuchstieren der Gruppe I eine schwere Rachitis erzeugt, so daß der Körper auf seine Mineralreserven zurückgriff. Die weiche und flexible Konsistenz der Femora, der Aschegehalt derselben und ihr Gehalt an Calcium und Phosphor sind Beweise für diese Angaben. Ein Teil der Tiere starb sogar an Entkräftung. Trotzdem blieb das Dentin der Molaren der Tiere der Gruppe I unbeeinflußt, wie aus den Ergebnissen der Härtemessungen und der Calcium- und Phosphorbestimmungen ersichtlich ist. Im literarischen Teil wurde gezeigt, daß dem Dentin Stoffwechsel eingeräumt wird. Bestünde nun die Möglichkeit, daß der Organismus bei Störungen im Mineralstoffwechsel (Calcium und Phosphor) auf die Mineralien des Dentins ebenso zurückgreift wie auf die Mineralreserven im Knochen, dann müßte sich dies durch die Härtemessungen im Dentin der Molaren, sowie durch die Calcium- und Phosphorbestimmungen nachweisen lassen. Aus den oben angeführten Untersuchungen, die

weder einen Unterschied in der Härte des Dentins der Molaren beider Gruppen, noch unterschiedliche Calcium- und Phosphorwerte ergeben haben, kann gefolgert werden, daß ein Mineralstoffwechsel des Dentins analog dem des Knochens nicht vorhanden sein kann, und daß eine endogene Demineralisation des Dentins der durchgebrochenen Zähne nicht möglich ist. Die oft beobachtete Härtezunahme des Dentins jugendlicher Personen im Vergleich zu älteren Probanden muß auf einen Ionenaustausch, wie dies im Schmelz der Fall ist, zurückgeführt werden. SOGNAES und Mitarbeiter (89) konnten in ihren Untersuchungen nachweisen, daß Ionenaustausch auch im Dentin stattfindet.

In der Literatur findet man nicht selten die offene Frage, ob der im Verlaufe einer Gravidität in zunehmendem Maße steigende Calciumbedarf, der gegebenenfalls auf Kosten der Mineralreserven im Skelettsystem gedeckt werden kann, nicht auch zu einem Entzug von Mineralien aus den Zähnen führt, womit der oft beobachtete schnelle Kariesverlauf während der Schwangerschaft erklärt werden könnte. Die Gravidität stellt aber in der Regel keine so hohen Anforderungen an die Mineralreserven im Skelettsystem, wie es bei der schweren Rachitis im vorliegenden Versuch der Fall war. Wenn trotzdem eine endogene Demineralisation des Dentins der Rattenmolaren nicht festgestellt werden konnte, so kann - mit der bei Rückschlüssen aus Ergebnissen tierexperimenteller Untersuchungen auf Verhältnisse beim Menschen erforderlichen Vorsicht - gesagt werden, daß die Ursache einer Kariesprogression bei schwangeren Frauen nicht durch Mineralentzug aus dem Dentin bedingt sein kann.

E. Zusammenfassung

Die vorliegende tierexperimentelle Studie liefert einen Beitrag zu der Frage, ob auf endogenem Wege eine Demineralisation des Dentins fertig ausgebildeter Zähne erfolgen könnte, wie sie in der Literatur immer wieder behauptet wird.

Aus 110 männlichen und weiblichen Albinoratten, die bei Versuchsbeginn 23 Tage alt waren, wurden zwei Gruppen I und II gebildet. Während die Tiere der Gruppe II als Kontrolle dienten und Normalkost erhielten, wurde bei den Tieren der Gruppe I auf alimentärem Wege durch Verfütterung einer Mangel-diät eine floride Rachitis erzeugt, die röntgenologisch, histologisch und durch Bestimmung des Aschegehaltes der Femora belegt wird. Die Verfütterung der als Mangeldiät verwendeten McCollum-Kost (3143) an die Tiere der Gruppe I wurde solange fortgesetzt, bis die Tiere an Entkräftung zu sterben begannen.

Untersucht wurde die Härte des Dentins der bei Versuchsbeginn in die Mundhöhle durchgebrochenen ersten und zweiten Molaren, sowie der Calcium- und Phosphorgehalt der Asche der Femora und ersten Molaren. Aus den genannten Untersuchungen können Rückschlüsse auf eine etwaige Demineralisation des Dentins gezogen werden.

Hinsichtlich der bei Versuchsbeginn fertig ausgebildeten ersten Molaren wurden Unterschiede zwischen Gruppe I und II weder in der Dentinhärte noch im prozentualen Calcium- und Phosphorgehalt der Zahnasche gefunden. Dagegen wies das Dentin der zweiten Molaren in Gruppe I eine geringere Härte auf als in Gruppe II, was auf das bei Versuchsbeginn noch nicht ganz abgeschlossene Wachstum dieses Molaren zurückgeführt wird. Die Unterschiede zwischen Gruppe I und II im prozentualen Calcium- und Phosphorgehalt der Femorasche weisen auf den extremen Grad der erzeugten Rachitis und den erheblichen Mangelzustand an Calcium und Phosphor bei den Tieren der Gruppe I hin.

Die unter den genannten Versuchsbedingungen gewonnenen Ergebnisse bieten keinen Anhalt für eine auf endogenem Wege erfolgende Demineralisation des Dentins der durchgebrochenen Zähne.

F. Literaturverzeichnis

1. FORSHUFVUD, S. : Betrachtungen über die Pathogenese der Zahnkaries.
Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. in Vorträgen 4, 18 - 35, (1950)
2. CSERNYEI, J. : Das Initial der Zahnkaries.
Dtsch. Zahn-, Mund- u. Kieferheilk. 24, 190 - 200, (1956)
3. CSERNYEI, J. : Färberischer Nachweis der endogenen Demineralisation des Dentins vor der Bildung der kariösen Kavität.
Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 263 - 264, (1959)
4. FISCHER, G. : Das feingewebliche Bild lebender Zähne und seine Beziehung zum Gesamtorganismus.
Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 1183 - 1184, (1955)
5. PROELL, F. : Schmelzstudien im Rahmen der Kariesursachenforschung.
Stoma 11, 101 - 110, (1958)
6. BUTENANDT, A. : zit.: nach (5)
7. WERNLY, M. : Parathyreoidea. In LABHART, A.: Klinik der Inneren Sekretion.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1957), S. 830, 831, 834, 836, 837, 838
8. EULER, H. : Die Kariesätiologie.
Hanser, München (1948), S. 23
9. WANNENMACHER, E. : Das biologische Verhalten des Schmelzes unter Berücksichtigung von experimentellen Ergebnissen mit radioaktiven Stoffen (Isotopen).
Dtsch. zahnärztl. Z. 4, 925-936, (1949)

- : Speichel und Karies unter Berücksichtigung tierexperimenteller Untersuchungen.
Zahnärztl. Welt/Reform 63, 15 - 18,
(1962)
11. LNUZ, H. : Bestehen zwischen Schmelz und Dentin präformierte Bahnen? Elektronenmikroskopische Untersuchungen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 272 - 279,
(1959)
12. SPRETER VON KREU- : Dentinstoffwechselstudien.
DENSTEIN, TH. I. Mitteilung: Über den Dentinliquor.
Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 473 - 476,
(1955)
13. STÜBEN, J. : Dentinstoffwechselstudien.
II. Mitteilung: Polarometrische Bestimmung des Sauerstoffverbrauchs im überlebenden Dentin.
Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 949 - 952,
(1955)
14. SPRETER VON KREU- : Dentinstoffwechselstudien.
DENSTEIN, TH. und III. Mitteilung: Die thermische Methode zum Nachweis des Dentinliquors.
STÜBEN, J. Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 1178 - 1182,
(1955)
15. SPRETER VON KREU- : Dentinstoffwechselstudien.
DENSTEIN, TH. und IV. Mitteilung: Über die Gewinnung
J. STÜBEN des Dentinliquors durch Eluation zum Zwecke der Bestimmung seiner Bestandteile, sowie Untersuchungen über den Wassergehalt des Dentins und über das Dentinliquorspatium.
Dtsch. zahnärztl. Z. 11, 1214 - 1220,
(1956)

16. SPRETER VON KREU- : Dentinstoffwechselstudien.
DENSTEIN, TH. und V. Mitteilung: Papierchromatographi-
J. STÜBEN sche Untersuchungen über den Gehalt
an freien Aminosäuren im Dentinliquor
menschlicher Zähne.
Dtsch. zahnärztl. Z. 11, 1448 - 1454,
(1956)
17. STÜBEN, J. und : Dentinstoffwechselstudien.
TH. SPRETER VON VI. Mitteilung: Papierelektrophoretische
KREUDENSTEIN Untersuchungen über die Zusammen-
setzung der Dentinliquorproteine.
Dtsch. zahnärztl. Z. 12, 500 - 507,
(1957)
18. STÜBEN, J. und : Dentinstoffwechselstudien.
TH. SPRETER VON VII. Mitteilung: Untersuchungen über
KREUDENSTEIN den Eiweißgehalt des Dentinliquors
menschlicher und tierischer Zähne
auf Grund der Bestimmung des Gesamt-
stickstoff- und Reststickstoffgehal-
tes in Dentineluaten.
Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 1702 - 1706,
(1959)
19. OHLENBUSCH, H. D., : Experimentelle Untersuchungen über
J. STÜBEN und den Gehalt an alkalischen Phosphata-
TH. SPRETER VON sen im Dentinliquor menschlicher und
KREUDENSTEIN tierischer Zähne.
Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 1250 - 1255,
(1959)
20. SPRETER VON KREU- : Über den Nachweis der Aktivität ver-
DENSTEIN, TH. schiedener Fermente im Dentinliquor.
Dtsch. zahnärztl. Z. 15, 371 - 375,
(1960)
21. STÜBEN, J. : Experimentelle Untersuchungen über
die Sulfonamidverteilung in Serum
und Dentinliquor.
Dtsch. zahnärztl. Z. 12, 325 - 327,
(1957)

22. SPRETER VON KREU- : Über die antibiotische Wirkung des
DENSTEIN, TH., Dentinliquors nach oraler und paren-
J. STÜBEN und teraler Zufuhr von Penicillin.
H. KNOTHE · Dtsch. zahnärztl. Z. 12, 327 - 330,
(1957)
23. STÜBEN, J. und : Experimentelle Untersuchungen über
TH. SPRETER VON die Beteiligung des Zahnmarkes am
KREUDENSTEIN Stoffaustausch zwischen Blut und
Dentinliquor.
Dtsch. zahnärztl. Z. 15, 967 - 971,
(1960)
24. SPRETER VON KREU- : Schlußwort zur Diskussion zum Vor-
DENSTEIN, TH. trage "Über den Nachweis der Aktivi-
tät verschiedener Fermente im Dentin-
liquor."
Dtsch. zahnärztl. Z. 15, 375, (1960)
25. SCHÜTTE, E. : Mineralstoffwechsel. In: FLASCHEN-
TRÄGER, B. und E. LEHNARTZ: Physio-
logische Chemie. 2. Band: Der Stoff-
wechsel, 1. Teil, Bandteil a, S. 614.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg
(1954)
26. LANG, K. : Biochemie der Ernährung.
Steinkopff, Darmstadt (1957), S. 141,
142, 143, 144, 145, 146, 147, 149,
224, 226, 228, 229.
27. LEIMGRUBER, CH. : Über die Struktur der harten Zahn-
gewebe.
Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 66, 1010 -
1023, (1956)
28. HODGE, H. C. : in ORBAN, B. (Editor): Oral Histology
and Embryology.
Mosby, St. Louis (1944), S. 55

29. MINDER, W. und : Über den Einfluß von Fluor auf den
T. GORDONOFF Wassergehalt des Knochens
Arch. int. Pharmacodyn. 140, 173 - 182,
(1962)
30. NEUMAN, W. F. : The Chemical Dynamics of Bone Mineral.
und University Press, Chicago (1958),
M. W. NEUMAN S. 57, 101-136, 169-187
31. NEUMAN, W. F. und : The nature of the mineral phase of
M. W. NEUMAN bone.
Chem. Rev. 53, 1, (1953)
32. CARLSTRÖM, D. : X-Ray Crystallographic Studies on
Apatites and Calcified Structures.
Acta radiol. (Stockholm), Suppl. 121,
(1955), S. 33 - 37
33. HARRISON, M. und : Bone structure and metabolism in
R. FRASER calcium-deficient rats.
J. Endocr. (London) 21, 197 - 205,
(1960)
34. MEYER, W. : in PORT-EULER: Lehrbuch der Zahnheil-
kunde. 6. Aufl. Bergmann, München
(1951), S. 75 - 87
35. HELMCKE, J. G. : Elektronenmikroskopische Struktur-
untersuchungen an gesunden und kran-
ken Zähnen.
Dtsch. zahnärztl. Z. 10, 1461 - 1478,
(1955)
36. SCHMIDT, W. : Die Erforschung molekularer Texturen
tierischer Zellen und Gewebe an Hand
der Polarisationsoptik.
Nova acta Leopoldina N.F. 17, 497,
(1955)
37. BÜTTNER, W. : Wissenschaftliche Grundlagen der
Kariesprophylaxe durch Fluor und

andere Spurenelemente.

Zahnärztl. Mitt. 52, 552-556, 604-607,
(1962)

38. DEAKINS, M. : Changes in the Ash, Water and Organic
Content of Pig Enamel during Calcifi-
cation.
J. dent. Res. 21, 429, (1942)
39. TOTAH, V. P. : Increase in Hardness of Dentin on
Drying.
J. dent. Res. 21, 99, (1942)
40. CRAIG, R. G., : Relation of Structure to the Micro-
P.E. GEHRING, and hardness of Human Dentin.
F.A. PEYTON J. dent. Res. 38, 624, (1959)
41. HERRMANN, M. : Die Veränderung der Härte des Zahnes
nach toxischen Fluorgaben.
Dtsch. zahnärztl. Z. 13, 567 - 571,
(1958)
42. HERRMANN, M. und : Zur Toxizitätsfrage des Fluors.
F. ROZEIK Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 337 - 347,
(1959)
43. WHISTLER, O. : De morbo puerili Anglorum quem patrio
idiomate indignae vocant, The Rickets.
Thesis (1645)
zit.: nach (45), S. 582
44. GLISSON, F. : De Rachitide., London (1650)
zit.: nach (45), S. 582
45. HARRIS, L.J. : Vitamine D and Bone. In BOURNE, G.H:
The Biochemistry and Physiology of
Bone. Academ. Press. Inc., New York
(1956), S. 581 - 622
46. HAMPERL, H. : Lehrbuch der allgemeinen Pathologie
und der pathologischen Anatomie.
20. u. 21. Aufl. Springer, Berlin-
Göttingen-Heidelberg (1954), S. 686

47. HOFF, F. : Klinische Physiologie und Pathologie.
Thieme, Stuttgart 1962, S. 562
48. SCHLOSS, E. : Die Pathogenese und Ätiologie der
Rachitis sowie die Grundlagen ihrer
Therapie.
Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 15, 55
(1917)
49. HOLTZ, FR. und : Knochengewebe und Verkalkung.
E. SCHÜTTE In FLASCHENTRÄGER, B. und E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie. 2. Band: Der
Stoffwechsel, 1. Teil, Bandteil a,
S. 700 - 723.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg
(1954)
50. FREUDENBERG, E. : Der Verkalkungsvorgang bei der Ent-
wicklung des Knochens.
P. GYÖRGY Ergebn. inn. Med. Kinderheilk. 24,
17 - 28, (1923)
51. LOGAN, M.A. : Recent advances in chemistry of
calcification.
Physiol. Rev. 20, 522 - 560, (1940)
52. HIRSCHMAN, A. E. : Calcification X. An X-Ray Diffraction
A.E. SOBEL, and Study of Calcification in vitro in
I. FANKUCHEN Relation to Composition.
J. biol. Chem. 204, 13 - 18, (1953)
53. ROBINSON, R. : The possible significance of hexose-
phosphoric esters in ossification.
Biochem. J. 17, 286 - 293, (1923)
54. BOYD, E.S. and : Surface chemistry of bone. V. The ion-
binding properties of cartilage.
W. F. NEUMAN J. biol. Chem. 193, 243 - 251, (1951)

55. WOLF, H. : Vitamin D. In FLASCHENTRÄGER, B. und E. LEHNARTZ: Physiologische Chemie. 2. Band: Der Stoffwechsel, 2. Teil, Bandteil b, S. 825 - 841. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1957)
56. WILHELM, G. : Zur Pathogenese der Rachitis und Wirkungsweise des D-Vitamins.
I. Mitteilung: Die Störungen des Verknöcherungsprozesses bei der Rachitis und ihre Beeinflussung durch Vitamin D. Z. Kinderheilk. 83, 711-733, (1960)
57. WILHELM, G. : Zur Pathogenese der Rachitis und Wirkungsweise des D-Vitamins.
II. Mitteilung: Allgemeine Stoffwechselstörungen außerhalb des Skelettsystems und Vitamin-D-Wirkung. Z. Kinderheilk. 84, 623-650, (1960)
58. FANCONI, G. : Das Vitamin D als Heilmittel und Gift. Schweiz. med. Wschr. 52, 1253, (1953)
59. ROZEIK, F. : Xerostomie und Kariesgenese unter Berücksichtigung tierexperimenteller Untersuchungen.
Med. Habil. Schr., Mainz (1958), S. 11 7, 8.
60. RIETHE, P. : Überzähliger Molar bei einer weißen Ratte.
Österr. Z. Stomat. 53, 353, (1956)
61. HAGEMANN, E. : Ratte und Maus (Versuchstiere in der Forschung).
de Gruyter, Berlin (1960), S. 128, 129, 131, 176
62. NICOLAYSEN, R. : The Biochemistry and Physiology of Vitamine D.
und
N. EEG-LARSEN Vitam. and Horm. 11, 29, (1953)

63. McCOLLUM, E. V., : Studies on experimental rickets.
N. SIMMONDS, VIII. The production of rickets by
P.G. SHIPLEY, and diets low in phosphorus and fat-
E. A. PARK soluble A.
J. biol. Chem. 47, 507, (1921)
64. STEENBOCK, A., and: Fat-soluble Vitamins.
A. BLACK XXIII. The induction of growth-
promoting and calcifying properties
in fats and their unsaponifiable
constituents by exposure to light.
J. biol. Chem. 64, 263 - 298, (1925)
65. BETHKE, R. M., : The effect of calcium-phosphorus
C.H. KICK, and relationship on growth, calcification
W. WILDER and blood composition of the rat.
J. biol. Chem. 98, 389 - 403, (1932)
66. DAY, H. G., and : Mineral metabolism, growth and sympto-
E. V. McCOLLUM matology of rats on a diet extremely
deficient in phosphorus.
J. biol. Chem. 130, 269 - 283, (1939)
67. IRVING, J. T. : The action of fluorine upon the
calcification of the dentin in
rats with low calcium rickets.
J. dent. Res. 28, 17, (1949)
68. SHOHL, A.T., and : Rickets in rats.
S. B. WOLBACH J. Nutr. 11, 275, (1936)
69. GRAB, W. : Die Auswertung der antirachitischen
Wirksamkeit neuer Sterinderivate im
Versuch an Ratten und Küken.
Z. f. physiol. Chem. 243, 63 - 89,
(1936)
70. McCOLLUM, E. V., : Studies on experimental Rickets.
and N. SIMMONDS (The effect of starvation on the
healing of rickets).
Johns Hopk. Hosp. Bull. 33, 31, (1922)

71. HEYMANN, R. : Über den Einfluß der Rachitis auf die Härte der Zahnhartsubstanzen. Med. Diss., Mainz (1961), S. 35
72. ROZEIK, F. : Toxizität von Evipan-Natrium bei intramuskulärer Verabreichung an die Ratte. Zahnärztl. Prax. 8, 20, (1957)
73. KNEBEL, U. : Tierexperimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Rachitis auf die Karies. Med. Diss., Mainz (1958), S. 42
74. BRUNE : zit.: nach (61)
75. WESTPHAL, W. H. : Physik. 13. Aufl. Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1948), S. 118
76. PROELL, F. und : Die Ritzhärte des Schmelzes. L. SCHUBERT Z. f. Stomatol. 26, 1047-1063, (1928)
77. BRINELL : zit.: nach (76)
78. LEITZ, E. : Anleitung zum Arbeiten mit dem Kleinhärteprüfer Durimet. Wetzlar (1959), Druck Ernst Leitz GmbH.
79. BAUMGARTE, W. : Über die Relation zwischen physikalischer Härte des Zahnes und Kariesbefall. Med. Diss., Mainz (1962), S. 30 - 36
80. HERRMANN, M. und : Über den Einfluß der Speicheldrüsen F. ROZEIK auf den Mineralstoffwechsel. Dtsch. zahnärztl. Z. 14, 1055, (1959)
81. STEBER, G. : Mercks Jahresber. 69, 30, (1956)
82. SCHWARZENBACH, G. : Die komplexometrische Titration. Die chemische Analyse Bd. 45, 3. Aufl., Enke, Stuttgart (1957)

83. MERCK, E. : Komplexometrische Bestimmungsmethoden mit Titriplex.
E. Merck AG., Darmstadt
84. FLASCHKA, H. : Über die Verwendung von Komplexon in der Maßanalyse.
Fortschr. chem. Forsch. Bd. 3,
253 - 308, (1955)
85. GEILMANN, W. und : Die Bestimmung geringer Phosphatgehalte in Gläsern.
H. JENNEMANN
Glastechn. Berichte 26, 341, (1955)
86. GERICKE, S. und : Colorimetrische Bestimmung der Phosphorsäure mit Vanadat-Molybdat
B. KURMIES
(VM-Methode).
Z. analyt. Chem. 137, 15 - 22, (1952)
87. KORTÜM, G. : Kolorimetrie und Spektralphotometrie.
2. Aufl., Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg (1948), S. 5.
88. ROZEIK, F. : persönliche Mitteilung
89. SOGNAES, R. F., : Radiotracer studies on bone, cementum,
J. SHAW, and
R. BOGOROCH
dentin and enamel of rhesus monkeys.
Amer. J. Physiol. 180, 408 - 420,
(1955)

Hiermit gestatte ich mir, Herrn Oberarzt Privatdozent Dr. F. ROZEIK für die freundliche Überlassung des Themas und die Übernahme des Referates, sowie für die mir jederzeit - insbesondere bei Planung und Durchführung des experimentellen Teiles der Arbeit - gewährte Unterstützung in Rat und Tat herzlichst zu danken.

Herrn Professor Dr. Dr. M. HERRMANN danke ich für die Übernahme des Korreferates und die mir gebotenen Arbeitsmöglichkeiten im Kariesforschungsinstitut an der Universität Mainz, sowie für die großzügige Gewährung eines Stipendiums, ohne dessen Erhalt mir die Durchführung dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

L e b e n s l a u f

Am 25. August 1930 wurde ich als Sohn des heute in Bad Kreuznach lebenden Oberstleutnants a. D. und Regierungsrates a. D. Heinrich Saenger und seiner 1959 verstorbenen Ehefrau Maria, geb. Weckesser, in Kassel geboren. Von 1937 bis 1941 besuchte ich die Volksschule in Kassel und Siegen, von 1941 bis 1951 die Oberschule für Jungen in Siegen und das Realgymnasium für Jungen in Eschwege und bestand am 22. Februar 1951 die Reifeprüfung. Vom Sommersemester 1952 an studierte ich Zahnmedizin an der Philipps-Universität in Marburg und legte vor dem dortigen Prüfungsausschuß im Frühjahr 1954 die zahnärztliche Vorprüfung mit dem Gesamturteil "gut" ab. Die klinischen Semester absolvierte ich an den Universitäten Köln und Marburg und erhielt nach vor dem Prüfungsausschuß der Universität Marburg mit dem Gesamturteil "gut" bestandenen Staatsexamen mit Wirkung vom 3. November 1956 die zahnärztliche Approbation. Nach dem zahnärztlichen Staatsexamen war ich in Praxisvertretungen in Köln und Düsseldorf tätig und studierte außerdem Medizin an der Universität Köln. Nach Abbruch des Medizinstudiums aus finanziellen Gründen bin ich seit November 1960 an der Universitätsklinik für Zahn-, Mund- und Kieferkrankheiten in Mainz tätig, wo ich als Volontärassistent zunächst ein Stipendium erhielt und seit März 1963 mit der Verwaltung einer wissenschaftlichen Assistentenstelle beauftragt bin.



